Zur
Biochemie des Phasins.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Otto Wienhaus

aus **Hagen** in Westfalen.

Rostock.

Rats- und Universitäts-Buchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.

1909.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität zu Rostock.

Referent: Prof. Dr. med. et jur. R. Kobert.

Meiner lieben Mutter

in Dankbarkeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551526_0007

I. Einleitung.

Mehr als 20 Jahre sind verflossen seit der im Kobertschen Laboratorium erfolgten Entdeckung des ersten pflanzlichen Hämagglutinins, des giftigen Ricins[1]), an die sich dann später noch die Auffindung dreier weiterer solcher agglutinierenden, nebenbei auch toxisch wirkenden Substanzen anschloß: des Abrins[2]), Crotins[3]) und Robins[4]). Wenn auch von den verschiedensten Seiten im Laufe der Jahre zahlreiche Forschungen über diese Stoffe unternommen worden sind, so hat die Zeitspanne von zwei Jahrzehnten doch nicht ausgereicht, um endgültige Klarheit über das Wesen sowohl der Agglutination, als auch zumal der Agglutinine selbst zu verbreiten. Wohl ist dank den eingehenden Arbeiten von Landsteiner und Jagič[5]) für die mineralischen Agglutinine, von denen das erste auch im Kobertschen Laboratorium als solches erkannt wurde,[6]) der chemische Vorgang bei der Agglutination

---

[1]) H. Stillmark, Über Ricin. Diss., Dorpat 1887; verbessert und vervollständigt enthalten in Arb. d. pharmakol. Inst. zu Dorpat **3**, 1889.

[2]) H. Hellin, Der giftige Eiweißkörper Abrin und seine Wirkung auf Blut. Diss., Dorpat 1891.

[3]) Elfstrand, Über blutkörperchenagglutinierende Eiweiße. Görbersdorfer Veröffentlichungen **1**, 1, 1898.

[4]) C. Lau, Über vegetabilische Blutagglutinine. Diss., Rostock 1901.

[5]) Münch. med. Wochenschr. **1904**, Nr. 27.

[6]) Siegfried, Arch. de Pharmacodynamie et Thérapie 9, 225, 1901.

klargestellt. Anders jedoch bei den animalischen und vegetabilischen Agglutininen. Man könnte zwar vermuten, daß von letzteren die aus den höher organisierten Pflanzen stammenden der exakten Untersuchung verhältnismäßig leicht zugänglich seien, bei weitem leichter wenigstens als die Bakteriohämagglutinine[1]) und vor allem als die Blut- und Bakterienagglutinine, die in dem so komplizierten und diffizilen Serum sich finden. Nichtsdestoweniger ist es der experimentellen Technik bisher keineswegs geglückt, diese Substanzen und ihre Wirkungsart unserer Erkenntnis völlig zugänglich zu machen.

Was speziell den Charakter des Ricins, Abrins, Crotins und Robins anlangt, so hatte anfangs Kobert durch seinen Schüler Stillmark[2]) auf Grund der Darstellungsweise das Ricin als einen Eiweißkörper bezeichnen lassen, eine sog. Phytalbumose, zur Gruppe der ungeformten Fermente gehörend; die Toxizität der Substanz beruhe auf ihrer agglutinierenden Wirkung. Lau[3]) zeigte später unter Kobert, daß die vegetabilischen Blutagglutinine auch andere Zellen des Körpers analog den roten Blutkörperchen verändern und zerstören. Kobert hat gleich von vornherein auch den Ausdruck Toxalbumine gebraucht. Ehrlich[4]) tat dar, daß die beiden wichtigsten Substanzen dieser Gruppe wie die bakteriellen Toxine benutzt werden können, um aktive Immunisierung von Tieren herbeizuführen, und daß die erlangte Immunität eine spezifische sei, d. h. daß Abrinimmunität nicht gegen Ricinvergiftung schützt und umgekehrt. Damit war erwiesen, daß unsere Stoffe zur Gruppe der Toxine im Sinne Ehrlichs gehören. Stillmarks Annahme von der Zugehörigkeit zu den Enzymen war damit natürlich noch nicht widerlegt, denn es gibt ja auch eine Immunisierung gegen Enzyme.

Cushny[5]) zog schon bald darauf die Enzymnatur des Ricins in Zweifel; er kam zu der Ansicht, daß „das Ricinusgift sich von den Eiweißstoffen des Samens nicht trennen läßt,

---

[1]) Vgl. über diese: Guyot, Centralbl. f. Bakt. 47, Heft 5, 1908.

[2]) l. c.

[3]) l. c.

[4]) Experimentelle Untersuchungen über Immunität. Deutsche med. Wochenschr. 1891.

[5]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 41, Heft 6, 1898.

sondern entweder selbst ein Eiweißkörper ist oder wenigstens mit dem Eiweiß in einer Verbindung sich befindet, aus der es durch die gewöhnlichen Methoden nicht frei zu machen ist.“ Ferner stellte er auf Grund seiner Versuche mit ricinfesten Tieren zum ersten Male die Behauptung auf, daß „die Giftwirkung mit der Blutwirkung nichts zu tun hat“. In diesem Punkte schloß sich ihm Franz Müller[1]) an, der durch Pepsinsalzsäure-Verdauung die agglutinierende Wirkung des Ricins verloren gehen sah, während die Giftwirkung erhalten blieb. Lau[2]) konnte ihm nicht beipflichten, fand vielmehr, daß sowohl Ricin wie Abrin und Robin durch mehrstündige bis mehrtägige Verdauung mittels Pepsin, Papayotin und Trypsin nicht in ihrer Blutwirkung geschwächt werden. Indes Jacoby[3]) bestätigte bis zu einem gewissen Grade Müllers Befund.

Zur Isolierung des Ricins glaubte Jacoby[4]) in einem Prozesse, dessen wesentlichsten Faktor, abgesehen von dem fraktionierten Aussalzen mit Ammoniumsulfat, die Verdauung mit Trypsin bildet, endlich ein Mittel gefunden zu haben. Das nach seiner Methode gereinigte Ricin hatte seine typische Giftigkeit voll bewahrt, ebenso sein Agglutinationsvermögen für rote Blutkörperchen. Trotzdem die Lösung eine hohe Giftkonzentration besaß, gab sie keine Eiweißreaktionen; jedoch wurde andererseits merkwürdigerweise das gereinigte Ricin durch Trypsin schnell zerstört. Nach Oppenheimer[5]) scheinen demnach die Eiweißspaltungsprodukte einen Schutz auszuüben. Mit dem Studium des Abrins beschäftigte sich eingehend Hausmann[6]); nach ihm wird, wie auch Lau (s. o.) bereits konstatiert hatte, durch Pepsinsalzsäure die agglutinierende Wirkung des Abrins nicht vernichtet, ebensowenig durch Trypsin; außerdem stimmt es durch sein Verhalten gegenüber dem fraktionierten Aussalzen mit dem Ricin überein. Im Gegensatz zu ihnen und auch zu Robin (vgl. oben) hat sich das Crotin als nicht resistent, speziell

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 302, 1899.
[2]) Über vegetabilische Blutagglutinine. Diss., Rostock 1901.
[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 51, 1901.
[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 28, 1901.
[5]) Toxine und Antitoxine, 1904, S. 164.
[6]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 134, 1902.

gegen die Pepsinverdauung, erwiesen,[1]) eine Eigentümlichkeit, die an und für sich wohl nicht gegen, sondern für seine Eiweißnatur spräche.

Wenn nun auch der Versuch Briegers[2]), nach Jacobys Vorgehen in analoger Weise durch Papainverdauung das Ricin rein darzustellen, mißlang, so schien doch durch die Versuchsergebnisse des letzteren Autors mit Sicherheit als Tatsache festgelegt zu sein, daß das Ricin — und mithin auch Abrin, Crotin und Robin — kein Eiweißkörper ist. Oppenheimer[3]) schrieb daher 1904: „Es ist also wieder eines der letzten ‚Toxalbumine' verschwunden und damit dürfte wohl dieser Begriff auch nur noch historisches Interesse haben. Er hat in der Entwicklung dieser Fragen seine große Bedeutung gehabt, besonders indem er zuerst darauf hinwies, daß diesen Giften ganz andere Eigenschaften zukommen als den krystalloiden Giften; aber nun dürfte es wohl an der Zeit sein, ihm ein ehrenvolles Begräbnis zu bereiten, da er jetzt nur noch Verwirrung stiften kann."

Doch bald darauf traten wieder Verteidiger der Eiweißnatur des Ricins auf den Plan: die Amerikaner Osborne, Mendel und Harris[4]), die die Versuche Jacobys einer scharfen Kritik unterzogen, besonders bezüglich der Reinheit seines Ausgangsmaterials und der negativen Eiweißreaktionen seiner reinen Ricinlösung, die nach ihrer Meinung, trotz Jacobys Gegenbehauptung, zu verdünnt war. Zur Reindarstellung ihres Ricins verzichteten sie auf die Verdauung und wandten nur umständliche, rein chemische Trennungsverfahren an. Als reines Ricin sprachen sie ein auf diesem Wege gewonnenes Albumin[5]) an, das, leicht löslich, überaus kräftige Gift- und Blutwirkungen entfaltete. Schon 0,001 mg pro Kilo Kaninchen genügte als tödliche Dose; ferner riefen selbst noch Verdünnungen von 1 : 100000 in verdünnten Blutsuspensionen in einigen Augenblicken totale Agglutination her-

---

[1]) Elfstrand. l. c. — Jacoby, Beiträge z. chem. Pysiol. u. Pathol. 4, 212, 1903.

[2]) Festschrift f. Robert Koch. Jena 1903.

[3]) l. c.

[4]) Americ. Journ. of Physiol. 14, Nr. 1, 1905.

[5]) Die Seroagglutinine scheinen dagegen nach verschiedenen Autoren mit den Serumglobulinen in Zusammenhang zu stehen.

vor. Dieses reine Ricin wurde bei der Koagulation durch Hitze (65°) unwirksam und war mit Trypsin schnell und völlig verdaubar.

Dieser Streit um die Eiweißnatur des Ricins schien plötzlich im Jahre 1907 in überraschender Weise seine Erledigung zu finden, indem nämlich v. Liebermann[1]) mit der Behauptung hervortat, daß das Ricin oder der agglutinierende Bestandteil desselben ein säureartiger Körper sei. Seine Beweise scheinen einfach und sehr plausibel, haben aber bald Kritiker gefunden in K. Meyer[2]), Guyot[3]), v. Eisler[4]), von denen letzterer u. a. insbesondere auf die Untersuchungen von Landsteiner und seinen Mitarbeitern hinweist; nach diesen ist die Agglutination als ein Aufeinanderwirken von amphoteren kolloiden Körpern aufzufassen, und es hat sich auch für Ricin ergeben, daß es sich im elektrischen Felde wie ein amphoterer Körper und nicht wie eine kolloidale Säure verhält. Ohne irgendwie in die Erörterungen einzugreifen, möchte ich nur darauf hinweisen, daß, wie Stillmark[5]) seinerzeit ausdrücklich betonte, von ihm niemals eine saure, sondern stets eine deutlich alkalisch reagierende und von Kobert immer eine neutrale Ricinlösung verwendet worden ist. Daß das käufliche Merckscbe Präparat sauer reagiert, gibt natürlich noch lange nicht die Berechtigung, dem Ricin eine saure Natur zuzuschreiben, da das Merckscbe Präparat, wie Kobert immer betont hat, nicht chemisch rein ist, sondern z. B. über 20% Salze enthält.

Jedenfalls ist es wohl erlaubt, aus all dem Gesagten den Schluß zu ziehen: Das Problem, die chemische Natur der pflanzlichen Agglutinine zu ermitteln, ist noch nicht als gelöst anzusehen. Vielmehr gilt auch hier, was Eisenberg[6]) in bezug auf die Seroagglutinine äußerte: „Wenn wir exakt sein wollen, haben wir bisher nur das Recht, nur von einer Agglutinationsfunktion zu sprechen, und wenn wir das hypothetische materielle Substrat dieser Funktion als Agglutinin bezeichnen, so hat das

---

[1]) Arch. f. Hygiene 62, Heft 4, 1907; Centralbl. f. Bakt. 47, Heft 3, 1908.

[2]) Centralbl. f. Bakt. 46, Heft 4, 1908.

[3]) Ebenda 47, Heft 5, 1908.

[4]) Ebenda 47, Heft 5, 1908 nnd 48, Heft 5, 1909.

[5]) l. c.

[6]) Centralbl. f. Bakt. 41, 96, 1906.

nur die Bedeutung eines Symbols, das uns logische Operationen mit diesem Begriff erleichtern soll."

Eine glatte Erledigung schien eine weitere, oben schon berührte Frage, nämlich ob die pflanzlichen Agglutinine Fermente sind, kürzlich gefunden zu haben. Sie ist, wenigstens was Ricin und Abrin anlangt, von v. Liebermann[1]) ausführlich behandelt worden, mit dem Schlußergebnis, daß die agglutinierende Wirkung dieser Stoffe keine Fermentwirkung im heutigen strengen Sinne ist. Aber auch dagegen läßt sich Widerspruch erheben.

Eine dritte Frage endlich, die sich auf die Identität von Toxin[2]) und Agglutinin im Ricin, Abrin usw. bezieht, ist allem Anscheine nach sozusagen spruchreif. Erwähnt wurden hinsichtlich dieser Frage bereits kurz die Vorstellungen Cushnys und Fr. Müllers. Hier möchte ich hinzufügen, daß letzterer die Beobachtung machte, daß durch Ricin agglutinierte Blutsuspensionen ein Filtrat liefern, welches nicht mehr agglutinierendes, wohl aber in gewissem Grade toxisches Vermögen enthalten kann; daß er ferner auch auf Grund der Erscheinungen und der Sektionsbefunde an mit Ricin vergifteten Tieren zu dem Schlusse kam, die Organismusschädigungen wären nicht durch das auf die roten Blutkörperchen in vitro wirkende Prinzip bedingt, es sei also das (nach Kobert und Stillmark dargestellte) Ricin kein einheitliches Gift. In der Folge ließ es sich Jacoby[3]) sehr angelegen sein, die Aufgabe zu lösen. So zentrifugierte er Mischungen von Ricin mit Erythrocyten und erhielt dadurch ebenfalls eine Flüssigkeit, die sich nicht mehr als agglutinierend, wohl aber noch als mehr oder minder giftig erwies, die aber dessen ungeachtet bei der Immunisierung ein beide Arten von Wirkungen paralysierendes Serum lieferte. Während nun Oppenheimer (l. c.), der diese Untersuchungen ausführlich beleuchtete, keine definitive Entscheidung treffen konnte, ob, vom Standpunkte der Ehrlichschen Seitenketten-

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1905, 1301.

[2]) Toxin, natürlich aufgefaßt als Gift von allgemeiner Wirkung, eben im Gegensatz zu dem Agglutinin, dessen Wirkung ja im Grunde genommen auch eine toxische ist (vgl. v. Liebermann, ebenda).

[3]) Über Ricinimmunität. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 535, 1902.

theorie, einer toxophoren und einer agglutinophoren je eine oder eine gemeinsame haptophore Gruppe zuzuerkennen sei, sprach Jacoby selbst das Ricin als ein Gemisch aus Vollgift, Toxintoxoid und Agglutinintoxoid an. Sich stützend auf die Ehrlichsche Feststellung, nach welcher Antiricinserum in vitro sowohl die toxische als auch die agglutinierende Kraft gleichzeitig aufzuheben vermag, des weiteren die völlige Agglutininfreiheit der gifthaltigen Flüssigkeiten, mit denen Jacoby die eben erwähnte Bildung eines kompletten Antiricins erzielte, in Zweifel ziehend, gibt v. Liebermann (l. p. c.) der einfachen Annahme den Vorzug, daß in dem Ricin bloß ein Toxin und ein Agglutinin nebeneinander vorkommen.

Daß es tatsächlich kräftig wirkende pflanzliche Hämagglutinine gibt, die einer toxischen Wirkung entbehren, daß also Agglutinin toxoide ganz getrennt für sich vorkommen, geht aus zwei unlängst gemachten Entdeckungen hervor: zunächst wurde durch Landsteiner und Raubitschek[1]) das Vorhandensein von Stoffen agglutinierender Eigenschaft in den Samen von ungiftigen Papilionaceen, in Bohnen, Erbsen, Linsen, Wicken festgestellt; sodann wurden von v. Eisler und v. Portheim[2]) analoge ungiftige Substanzen in den Samen einiger Daturaarten aufgefunden. Damit dürfte denn auch wohl die Frage nach der Einheitlichkeit jener zugleich mit toxischem Vermögen ausgestatteten pflanzlichen Agglutinine ihrer Beantwortung äußerst nahe gerückt sein.

Diese Entdeckung von Landsteiner und Raubitschek gab nun zu der vorliegenden Arbeit die Veranlassung. Die Versuchsergebnisse der beiden Autoren werden darin einerseits bestätigt, andererseits nicht unwesentlich ergänzt und erweitert. Die zahlreichen Versuche, deren Protokolle ich hier nur zum kleinsten Teile wiedergebe, sind teils von Prof. Kobert, teils von mir selbst ausgeführt worden. Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Kobert, für seine vielfachen Anregungen und für

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. 45, Heft 7, 1908.

[2]) Zeitschr, f. Immunitätsforschung u. experim. Therapie 1. Teil, Abt. 1, 1908, 151.

seine weitgehende liebenswürdige Unterstützung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

II. Über die Untersuchungen von Landsteiner und Raubitschek.[1])

Landsteiner und Raubitschek stellten die Extrakte, welche die von ihnen in den Samen von Bohnen (Phaseolus), Erbsen (Pisum), Linsen (Ervum) und Wicken (Vicia) nachgewiesenen, dem Ricin verwandten Stoffe enthielten, in folgender Weise dar.

Das aus den von ihren Schalen sorgfältig befreiten Samen durch möglichst feine Zerkleinerung erhaltene Pulver wurde mit dem 5fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und 24 Stunden im Eiskasten belassen. Hierauf wurde koliert und filtriert, bis das Filtrat leicht getrübt und opalisierend erschien. Resultat eines Titrationsversuches:

Blutart	Art des Extraktes			
	Bohnen	Erbsen	Linsen	Wicken
Mensch	800	40	20	20
Pferd	16000	128	64	128
Kaninchen	8000	1000	2000	200
Schaf	1600	4	∅	∅
Taube	32000	schwach	schwach	400
Karpfen	800	400	200	10
Frosch	400	80	∅	8

Die Zahlen drücken die Verdünnung aus, in der die verwendeten Extrakte (je 1,0 ccm) die betreffende Blutart (je 0,5 ccm einer 5%igen Aufschwemmung) eben noch deutlich (mikroskopisch) agglutinierten.

Die beiden Autoren ermittelten ferner, daß aus den Extrakten

1. bei schwachem Ansäuern ein Niederschlag ausfällt, der nur wenig Agglutinine enthält, während deren Hauptmenge im Filtrate sich findet;

2. durch Alkohol die agglutinierenden Substanzen gefällt werden und bei ihrer Neulösung keine beträchtliche Einbuße an Wirksamkeit zeigen;

[1]) Centralbl. f. Bakt. 45, Heft 7, 1908.

3. die agglutinierenden Substanzen durch Ammoniumsulfat aussalzbar sind. Die Agglutinine dialysieren nur schwer, aber leichter als Ricin. Gegen Salzsäure und Soda scheinen die Stoffe ziemlich resistent zu sein.

Das Bohnenextrakt übt eine präcipitierende Wirkung auf Serum aus:

Bohnen-extrakt	Hühner-serum	Pferde-serum	
1,0	1,0	—	sehr starker Niederschlag
1,0	0,5	—	starker Niederschlag
1,0	0,1	—	deutliche Trübung
1,0	—	1,0	deutlich getrübt
1,0	—	0,5	deutlicher Niederschlag
1,0	—	0,1	deutlich getrübt

Peritoneale Verabreichung von Bohnenextrakt an Tiere lieferte folgendes Ergebnis:

Tier	Gewicht	Bohnen-extrakt	Wirkung
Maus	mittel	2,0	überlebt
„	„	2,0	„
„	„	2,0	tot nach 48 Std.
„	„	1,0	überlebt
„	„	0,1	„
Meerschweinchen	ca. 300 g	2,0	„
Ratte	ca. 100 g	2,0	„
Kaninchen	ca. 1500 g	3,0	„

Einträufeln der Extrakte in den Bindehautsack des Kaninchenauges brachte keine Reizerscheinungen hervor.

III. Eigene Prüfung verschiedener Papilionaceensamen auf ihren Gehalt an Hämagglutininen.

Gewinnung der Extrakte. Von ihren Schalen nicht befreite Samen (50 g) wurden in einer Handmühle möglichst fein zermahlen, mit dem 5fachen Volumen 0,9%iger Kochsalzlösung

und, je nach der Menge, mit 1 bis 2 ccm einer Konservierungsflüssigkeit, gewöhnlich Toluol, versetzt; das Ganze tüchtig durchgeschüttelt und 18 bis 24 Stunden lang in kühlem Raume stehen gelassen. Sodann vorgenommene Filtration lieferte eine in der Regel ein wenig getrübte, opalisierende, je nach der Farbe der Samenschalen gefärbte Flüssigkeit (Stammlösung), zu deren eventueller Verdünnung physiologische NaCl-Lösung gebraucht wurde.

Protokoll eines Agglutinationsversuches mit der Stammlösung von weißen Bohnen. Probeobjekt: Mit 0,9%iger NaCl-Lösung hergestellte 5%ige Aufschwemmung von defibriniertem Hundeblut.

I.	5 ccm	Suspension	als Kontrolle ohne Zusatz			
II.	5 „	„	+ 1 ccm	Stammlösung		
III.	5 „	„	+ 2 „	„		
IV.	5 „	„	+ 3 „	„		
V.	5 „	„	+ 1/10 „	„	zu 1 ccm	Flüssigkeit ergänzt
VI.	5 „	„	+ 2/10 „	„	„ 2 „	
VII.	5 „	„	+ 3/10 „	„	„ 3 „	
VIII.	5 „	„	+ 1/60 „	„	„ 1 „	
IX.	5 „	„	+ 1/30 „	„	„ 2 „	
X.	5 „	„	+ 1/20 „	„	„ 3 „	
XI.	5 „	„	+ 1/100 „	„	„ 1 „	
XII.	5 „	„	+ 2/100 „	„	„ 1 „	

Beginn der Agglutination macht sich bei II bis IV sofort, bei V bis X nach 5 Minuten bemerkbar. Nach 4 Stunden folgender Befund: Bei II bis VII ist völlige Agglutination eingetreten: einzelne Klümpchen hängen an der Wand des Glases, der bei weitem größte Teil der Blutkörperchen ist am Boden zu einem kompakten Klumpen zusammengeballt, der sich beim Umkehren des Glases nicht wieder auflöst. Das Filtrat ist klar, mikroskopisch frei von einzelnen Blutkörperchen. Bei VIII bis XII ist, gradatim absteigend, die Agglutination partiell: der Bodensatz zerteilt sich beim Umkehren des Gläschens minder oder mehr wieder; das Filtrat ist leicht bis stark rot getrübt und enthält mikroskopisch unverklebte Blutkörperchen. In I keine Spur von Agglutination.

Bei allen Proben ist geringe Hämolyse eingetreten, jedoch ist diese nur als Fäulniserscheinung anzusehen, denn auch das Serum der Kontrolle ist deutlich gerötet. (Das Blut war nicht mehr ganz frisch.)

Ergebnis: In einer 5%igen Hundeblutsuspension wird, berechnet auf Bohnensubstanz als Einheit, noch bei einer Verdünnung 1:300 innerhalb 4 Stunden totale Agglutination herbeigeführt. Die Grenze für die partielle Agglutination ist bei der

Verdünnung 1:6000 noch nicht erreicht. Da doch nicht die ganze Bohnenmasse aus Agglutinin besteht, sondern da letzteres höchstens der Eiweißmenge (25%) entsprechen kann, ja wohl nur einen verschwindend kleinen Teil der Bohneneiweißsubstanz ausmacht, so ist durch vorstehenden Versuch erwiesen, daß dieses Gift in viel, viel größerer Verdünnung als $1:300\times4$ noch totale und in einer größeren Verdünnung als $1:6000\times4$ noch partielle Hämagglutination hervorruft.

Gleichartige Untersuchungen wurden nun an folgenden Samen mit folgenden Ergebnissen vorgenommen:

(Siehe Tabelle S. 12 u. 13.)

Es bedeutet: + Agglutination in geringem Maße; — Ausbleiben derselben auch trotz mehrstündigen Wartens; T totale, P partielle Agglutination. Die arabischen Ziffern geben die Verdünnungen berechnet auf ganze Samensubstanz als Einheit an; sie bedeuten keine Grenzwerte, d. h. maximale Verdünnungen, bis zu denen man überhaupt gehen kann, sondern sie drücken die mehr oder weniger weit vor den Grenzen liegenden Werte aus, bei denen in den jeweiligen Versuchsreihen in 5%igen Blutsuspensionen noch totale bzw. partielle Agglutination beobachtet wurde. Die römischen Ziffern bezeichnen die Stundenzahl, nach deren Verlauf das betr. Resultat abgelesen wurde.

Obgleich die Wartezeiten, nach deren Verlauf der Befund erhoben wurde, äußerer Umstände wegen nicht immer gleich lang waren und schon aus diesem Grunde der Wert der Tabelle nur ein bedingter ist, so geht doch aus dieser mit Sicherheit hervor, daß von sämtlichen Samen diejenigen von Phaseolus vulgaris am kräftigsten wirken, wie dies auch schon von Landsteiner und Raubitschek auf Grund ihrer Versuche hervorgehoben wurde. Im Gegensatz zu den beiden Autoren konnte für die Vicia-Arten bei Karpfenblut keine (allerdings wurde auch hier wie in den allermeisten anderen Fällen allein das makroskopische Bild in Rechnung gezogen), bei Hammelblut dagegen wohl eine, wenn auch nicht beträchtliche Agglutination beobachtet werden.

Extrakte aus Hülsen von Schotenerbsen, aus jungen grünen Bohnen, aus Leinsamen führten keine Veränderung an Hühnerblutkörperchen herbei. Desgleichen zeigte sich ein Auszug aus den Samen von Cassia absus wirkungslos gegenüber dem Blut von Katze, Kaninchen, Huhn. Gelegentlich

	Mensch	Schwein	Hund	Katze	Kaninchen	Meerschweinchen	Hammel	Rind	Huhn	Taube	Karpfen
Phaseolus vulgaris a) gew. weiße Bohne	T 4800 XV P 12000 XII		T 300 IV P 6000 IV		T 1500 I P 30000 V				T 6000 VI	T 6000 IV	
b) Wachsbohne (Flagelot) . .		stark +									
c) Schlachtschwert-Stangenbohne					T 175 IV P 3000 IV						
d) Holsteiner Perlbohne . . .					T 300 P3000 XXIV						
e) römische Wachsbohne . .					T 30 P 3000 IV						
Phaseolus Mungo		—			—					T 30 I	
„ ensiformis gigas . . .		—		—	—			—	P 15 XX Wiederholg. —	T 30 XVI Wiederholg. —	
„ eréctus		T30XXIV			P 35 IV			—	P 17 V	T 300 IV	
„ lunatus, unecht[1]) . .		—		P 20 XVII	P 17 IV				P 17 XXIV	T 60 XXIV	
„ „ echt[2]) . . .				—		—					
Soja hispida		T30XVIII	T 80 V P 1100 V	T 600 XX	T 120 P 6000 V	T 75 P 300			T 15 XX	T 300 XVI	
Vigna sinensis				T 17 V							
Arachis hypogaea					—						
Voandzeia subterranea					—	P 30			T 30 XX	T 30 I	
Pisum sativum			T30XXIV	—	T 30 I				—		
Lens esculenta	T 30 I		T30XXIV						—		
Vicia faba a) amerikanische Puffbohne .		—			T 300 P 3000 XV						

d) Weserpferdebohne							+	+			
e) Teverolle de Picardie . . .							+	+			
f) „ „ Lorraine . .	T 175 XVI					T 30 III					—
g) mazagana				+							
h) unicum								+			—
i) makrochloris						T 300 P 1750 XVII					—
k) atra	T 175 XVI					T 1750 XXIV					—
l) circularis						T 300 XVII					—
Vicia sativa a) gewöhnl. Futterwicke . . .							+	+			—
b) spanische „ . . .				+							
c) Futterwicke aus Finnland .				+							
d) „ „ Dalekarlien				+							
e) „ „ Kapetown .				+			+	+			—
f) leukosperma							+	+			—
Vicia villosa					T 60 XVII				+		
„ hybrida				T 27 V					+		
„ narbonnensis				+							
„ lutea graminea				+							
„ segetalis				+							
„ pseudocracca				+							

[1]) Nicht blausäurehaltig, weiß.
[2]) Blausäurehaltig, aus dem Reichsgesundheitsamt bezogen, weiß und farbig, gemischt.

zum Vergleiche angestellte Versuche mit Extrakt aus Abrus precatorius lieferten, wie nicht anders zu erwarten war, ein positives Resultat für die geprüften Blutarten: Schwein, Katze, Rind, Huhn, Taube. Die Vermutung, daß die Samen von Cassia absus wie die von Abrus precatorius wirken würden, hat sich nicht bestätigt.

IV. Darstellung und Prüfung des Phasins, d. h. des Bohnenagglutinins[1]) in gereinigterer Form.

1. Darstellung.

Wegen der relativ bedeutendsten Wirksamkeit ihrer Extrakte wurden die weißen Bohnen (Phaseolus vulgaris) zu einem eingehenden Studium ausgewählt. Als Übelstand erwies sich einerseits die leichte Zersetzbarkeit der Auszüge durch Fäulniserreger trotz Zusatz des Antisepticums, andrerseits war mit einem ungleichmäßigen Agglutiningehalt der verschiedenen Auszüge zu rechnen, da doch das Bohnenmehl nicht jedesmal völlig gleich feinpulvrig gemahlen und außerdem die Extraktionszeit nicht immer gleich (18 bis 24 Stunden) bemessen werden konnte.

Zwar ergab sich kein Unterschied im Wirkungswerte bei verschiedener Konzentration aber gleicher Einwirkungszeit der zum Auszug verwendeten NaCl-Lösung, wie aus folgendem Versuche hervorgeht:

Je 10 g feingemahlener Bohnen werden mit 500 ccm einer 0,9%igen und einer 11%igen Kochsalzlösung 24 Stunden lang extrahiert. Prüfung mit 5%iger Kaninchenblutsuspension. Beide Stammlösungen wirken stark und, wie es scheint, in gleichem Maße. Darauf wird 10fach verdünnt, d. h. der 11%ige Auszug mit Aq. dest., der 0,9%ige mit 1%iger NaCl-Lösung. Von diesen zwei Verdünnungen (Bohnensubstanz 1:500) wirken in vollständig gleicher Weise je 2 ccm auf 5 ccm der Blutsuspension binnen 1 Stunde völlig agglutinierend (1:1750), je 1 ccm aber nicht ganz total (1:3000).

---

[1]) Der Name „Phaseolin" konnte dem agglutinierenden Prinzip der Bohnen nicht gegeben werden, da er schon von Osborne und Clapp (Americ. Journ. of Physiol. 18, Nr. 3, 1907 und Zeitschr. f. analyt. Chem. 48, Heft 2, 1909) einem aus den Bohnen isolierten, von ihnen rein chemisch untersuchten, krystallisierbaren Eiweißkörper beigelegt worden ist. Ferner paßt Phasin besser zu Abrin, Ricin, Crotin.

Nun ließ sich aber leicht ermitteln, daß eine mit physiologischer Kochsalzlösung gewonnene Stammlösung das Bohnenpulver natürlich nicht erschöpft, d. h. nur einen Bruchteil des in den Bohnen vorhandenen agglutinierenden Stoffes enthält. Es wurde nämlich der Filterrückstand, von dem die Stammlösung abfiltriert war, noch einmal ausgezogen, und zwar mit 11%iger NaCl-Lösung (250 ccm auf ursprünglich 50 g Bohnen). Bei Prüfung auf 5%ige Suspension von Menschen-, Pferde-, Hundeblut zeigte sich innerhalb weniger Minuten selbst auf Zusatz von nur $^1/_{10}$ ccm des Auszugs (+ $^9/_{10}$ ccm Aq. dest.) zu 5 ccm Blutaufschwemmung (Verdünnung 1:300) totale Agglutination.

Auf eine quantitative Gewinnung des Phasins aus den Bohnen habe ich keine Mühe verwandt, da das Ausgangsmaterial ja billig ist. Wohl aber kam es mir darauf an, für viele Versuche ein gleichmäßig wirkendes Präparat zu erhalten. Infolgedessen wurden, um ein solches Präparat von einigermaßen konstantem Gehalt an Agglutinin zu finden, folgende Trennungsverfahren durchgeprüft.

A. Mit Säure. 20 ccm Bohnenstammlösung, welche mittels physiol. ClNa-Lösung gewonnen worden war, + 3 Tropfen verdünnter Salzsäure geben einen voluminösen Niederschlag (N), der durch Filtrieren abgetrennt wird. Das Filtrat, neutralisiert, wirkt noch stark agglutinierend. Weitere Tropfen von Salzsäure fällen aber nichts mehr (und weniger als 3 Tropfen waren ungenügend). Wird nach der Salzsäure auch noch gesättigte NaCl-Lösung zugesetzt, so ergibt sich noch eine minimale Fällung. Diese muß also wohl eine wirksame Substanz enthalten, setzt jedoch nicht ab. Der Niederschlag (N), in physiol. Kochsalzlösung suspendiert, wirkt ebenfalls noch agglutinierend, birgt also auch wirksame Stoffe in sich, aber wohl nur, weil jeder voluminöse Niederschlag unser Gift teilweise mit niederreißt. Immerhin geht bei dieser Methode der Abscheidung stets etwas von der wirksamen Substanz verloren. Sie wird daher nicht weiter benutzt.

B. Mit destilliertem Wasser. Die mit Aq. dest. im Verhältnisse 1:2, 1:3 bis 1:10 versetzte mittels physiol. ClNa-Lösung gewonnene Stammlösung gibt eine voluminöse Fällung. Selbst aber bei 1:10 findet sich sowohl im Filtrat als auch im Niederschlag reichlich Agglutinin. Es scheint also ein wirksames Globulin (im Niederschlag) und ein wirksames Albumin (im Filtrat) vorhanden zu sein; oder die wirksame Substanz hängt locker teilweise am Albumin und teilweise am Globulin der Bohnensubstanz. Wiederholung bestätigt diesen Befund. Dabei stellt sich ferner heraus, daß das Globulin ohne Albumin in 0,9%iger NaCl-Lösung schlechter löslich ist als in konzentrierter. Extrahiert man Bohnenpulver (oder das noch zu besprechende Mercksche Präparat)

mit destilliertem Wasser und setzt diesem später die erforderliche Menge ClNa zu, um eine 0,9%ige Kochsalzlösung zu erhalten, so wirkt diese weniger stark als wenn man mit 0,9%iger ClNa-Lösung ausgezogen hat. Ferner läßt sich hinterher aus dem Filterrückstand noch mittels physiol. NaCl-Lösung Gift ausziehen. Letzteres fällt beim Verdünnen der Lösung mit der zehnfachen Menge Aq. dest. wieder aus. Damit ist ebenfalls bewiesen, daß ein Teil des Agglutinins sich als Albumin und ein anderer als Globulin gewinnen läßt.

C. Mit Alkohol. 50 ccm Bohnenstammlösung + 50 ccm Alkohol (96%) geben eine voluminöse Fällung. Das klare Filtrat enthält nichts Wirksames; es zeigt nach Zusatz sowohl von Alkohol als von physiol. NaCl-Lösung leichte Opalescenz; nach Einengung läßt sich durch 1. Mayers, 2. Millons, 3. Esbachs Reagens, 4. durch die Biuretreaktion die Anwesenheit einer Eiweißsubstanz (wohl Albumose) nachweisen, aber deren Menge ist minimal; sie erweist sich ferner als unwirksam. Sie wird durch Alkohol und Äther nur schwer ausgefällt. Außerdem enthält das Filtrat, ebenfalls spärlich, Salze und Zucker. Auf jeden Fall kann man durch diese Methode gewisse unwirksame Stoffe wegreinigen. Daher wurde diese Methode der Abscheidung aus dem mittels physiol. ClNa-Lösung gewonnenen wirksamen Auszug zur Darstellung der festen wirksamen Substanz benutzt. Die beiden (cf. B.) wirksamen Stoffe sind im Niederschlage enthalten und bedingen, daß dieser, in 50 ccm physiol. NaCl-Lösung gelöst, gerade so stark agglutinierend wirkte wie die Stammlösung. Der Niederschlag löst sich aber selbst beim Verdünnen auf 100 ccm nicht mehr ganz, weil durch zwölfstündiges Stehen unter Alkohol die Löslichkeit (nicht aber die Wirksamkeit) abgenommen hat. Zur weiteren Reinigung werden 90 ccm der „Suspension" (entsprechend 45 ccm Stammlösung) wiederum āā mit Alkohol versetzt und nach 16 Stunden filtriert.

Dieser Filterrückstand enthielt also nun die sämtlichen in der Stammlösung vorhanden gewesenen agglutinierend wirkenden Substanzen sowie eine nicht unbeträchtliche Menge von unwirksamen Eiweißstoffen. Die agglutinierenden, welche zunächst als ein Gemisch eines Albumins und eines Globulins erscheinen, nenne ich zusammengenommen Phasin.

Beim Trocknen des Filterrückstandes im Vakuum werden sie mit den unwirksamen Eiweißstoffen zusammen als feines weißes Pulver gewonnen. Löst man dieses jetzt in physiol. ClNa-Lösung, so bleibt die Hauptmenge der unwirksamen Stoffe auf dem Filter, während das Phasin ins Filtrat übergeht. Wir werden weiter unten erfahren, daß es durch Abverdauung noch weiter vom anhaftenden Eiweiß gereinigt werden kann.

Nachdem ich mittels obiger Methode C mir wiederholt Präparate von immer gleicher Wirksamkeit hergestellt hatte, hat Prof. Kobert durch die Firma Merck ein solches Bohnengiftpräparat in den Handel bringen lassen, welches als Aus-

gangsmaterial für die Gewinnung von reinem Phasin recht bequem ist. Ich werde dieses Präparat sowie die von mir selbst in analoger Weise dargestellten Pulver im nachstehenden vielfach zu erwähnen haben.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß die Wirksamkeit des reinen Phasins in allen unten folgenden Versuchen naturgemäß viel, viel stärker ist als die angegebenen Zahlen, weil diese sich ja stets auf das trocken gewogene Gemisch wirksamer und unwirksamer Substanz beziehen.

Der Einfachheit halber bezeichne ich im folgenden jedes von mir benutzte phasinhaltige nach obiger Methode gewonnene Pulver kurz mit B-A-P (Bohnenagglutininpräparat).

2. Wirkung auf verschiedene defibrinierte Blutarten.

1. Mensch. Sowohl frisches als bis zu 2 Tagen altes Blut von gesunden Menschen kam zur Verwendung. Aus verschiedenen Versuchsreihen ergab sich, daß totale Agglutination noch nachweisbar ist bei einem Zusatze von 0,5 mg B-A-P (enthalten in 1 ccm Flüssigkeit) zu 5 ccm Blutsuspension[1]), also bei einer Verdünnung 1 B-A-P : 12000. Die Grenze liegt zwischen 1 : 12000 und 1 : 24000.

Für die partielle Agglutination konnte ein einheitlicher Grenzwert nicht konstatiert werden. Das eine Mal war schon bei Verdünnung 1 : 35000 nichts mehr von Verkleben der Erythrocyten wahrzunehmen; ein anderes Mal dagegen trat noch bei 1 : 48000 teilweise Agglutination ein.

Vielleicht beruht diese Verschiedenheit der Ergebnisse darauf, daß im ersten Falle B-A-P von Merck, das schon etwa $^1/_2$ Jahr lang gelagert hatte, im zweiten Falle ziemlich frisches, selbst dargestelltes B-A-P benutzt wurde. — Die Ergebnisse wurden erst nach 15 bis 17 Stunden abgelesen; möglicherweise wären sie schon nach 4 Stunden ebenso ausgefallen.

Von Interesse war es auch, foetales Menschenblut zu prüfen. Es wurde gewonnen durch Auspressen aus den Gefäßen einer frischen menschlichen Placenta. In der Suspension ließ sich auch hier noch bei einer B-A-P-Verdünnung 1 : 12000 vollständige Agglutination erzielen. Die partielle wurde nur bis 1 : 22000 verfolgt.

2. Pferd. Eine vollständige Verklumpung der roten Blutkörperchen innerhalb 14 Stunden fand sich noch in der Probe, bei der zu 5 ccm Blutsuspension 1 ccm einer um das 8fache verdünnten 1%igen filtrierten frischen Lösung von B-A-P zugesetzt war, also bei einer 48000fachen Verdünnung des letzteren.

[1]) Gemeint ist stets 5%ige, falls nicht anders angegeben.

Wie weit man in der Verdünnung gehen kann, um eben noch partielle Agglutination hervorzurufen, wurde nicht ermittelt.

3. Schwein. Totale Agglutination führten herbei: 3 mg (gelöst enthalten in 3 ccm) innerhalb 1 Stunde; Verdünnung 1:2666; — 1 mg (in 1 ccm) innerhalb 24 Stunden; Verdünnung 1:6000. Die Grenze der teilweisen Agglutination liegt bei 24stündiger Wartezeit noch weit jenseits von 1:12000, denn 0,5 mg vermochten innerhalb dieser Zeit noch ein fast völliges Zusammenballen der roten Blutkörperchen in der Suspension hervorzurufen.

4. Hund. Totale Agglutination brachten in 5 ccm der Blutsuspension zuwege

innerhalb weniger Minuten 10 mg B-A-P (in 1 ccm),
„ spätestens 1 Stunde 2 „ „ („ 2 „),
„ längstens 2 Stunden 1 „ „ („ 1 „),

entsprechend also Verdünnungen 1:600; 1:3500; 1:6000. Die Grenze der partiellen Agglutination war noch nicht erreicht bei 1:24000.

5. Katze. Totale Agglutination erfolgte fast sofort bei einer Verdünnung 1:300. Dieselbe Wirkung innerhalb $4^1/_2$ Stunden bei 1:6000; binnen 18 Stunden bei 1:11000 und binnen 23 Stunden sogar noch bei 1:60000.

Versuche, die Grenze für die teilweise Agglutination der Suspension annähernd zu ermitteln, wurden nicht gemacht.

6. Kaninchen. Bei Verdünnung 1:3500 nach kurzer Zeit, bei 1:7000 innerhalb 15 Stunden totale Agglutination der Suspension. Nach 20stündiger Wartezeit fand sich partielle Verklumpung noch bei 1:12000, nicht mehr bei 1:35000.

7. Meerschweinchen. Zwei Versuchsreihen mit Lösungen von einerseits frischem, andrerseits 3 Monate altem, schlechter löslichem B-A-P. (Von letzterem wurde 48 Stunden nach dem Lösen das ausgefallene Eiweiß vor dem Gebrauche abfiltriert.) Es zeigte sich kaum ein Unterschied: bei den Proben mit frischem Material wurde bei einer Verdünnung 1:6000 schon nach $^3/_4$ Stunden totale Agglutination konstatiert; bei den anderen Proben wurde erst nach 5 Stunden abgelesen, und zwar dasselbe Resultat. Bei einer Wartezeit von 24 Stunden fand sich hier vollständige Agglutination sogar noch bei 1:11000.

8. Hammel. Während die bisher geprüften Säugetierblutarten alle leicht agglutinierbar waren, zeigte sich bei Hammelblut ein anderes Verhalten.

Ich prüfte zunächst an einer Suspension von 2 Tage altem Hammelblut mit einer 6 Wochen alten, etwas faulig riechenden 1%igen Lösung von B-A-P, und zwar mit 1, 2, 3, 10, 20 mg B-A-P entsprechenden Zusätzen. Nach 9 Stunden hatte sich in allen Gläschen ein Bodensatz gebildet; jedoch nur in der mit 20 mg B-A-P versetzten Probe zerteilte sich dieser Bodensatz bei gelindem Schütteln nicht ganz, wie dies in den anderen Proben und in der Kontrolle geschah. Ob wirklich

auch in jenem Falle Agglutination vorlag, erschien ziemlich zweifelhaft. Erst nach 24 Stunden ließ sich mit einiger Gewißheit partielle Agglutination erkennen, aber eben auch ausschließlich in der Probe mit 20 mg.

Wiederholung des Versuchens mit ganz frisch bereiteter 1%iger Lösung von B-A-P ergab ungefähr dasselbe. Nach Verlauf von $6^1/_2$ Stunden zeigte sich nur in der mit 20 mg (in 2 ccm) versetzten Blutaufschwemmung etwas von Agglutination, indem sich hier allein der Bodensatz bei einmaligem Umkehren des Gläschens nicht gänzlich auflöste. Nach 24 Stunden konnte denn auch bloß in dieser Probe von einer teilweisen Agglutination die Rede sein.

Es reichen demzufolge selbst verhältnismäßig hohe Dosen von B-A-P nicht aus, um 5 ccm einer Hammelblutsuspension völlig zu agglutinieren, obendrein erfordert die partielle Agglutination, die eben noch bei 350facher Verdünnung hervorgerufen werden konnte, eine ziemlich lange Inkubationszeit.

9. Rind. Noch ausgeprägter war die Reaktionslosigkeit dieser Blutart. Trotz häufig wiederholter Versuche, selbst an noch warmem Blute, mit alten und mit frisch bereiteten Lösungen von B-A-P und Dosen bis zu 50 mg war es nicht möglich, in der Rinderblutsuspension mit einiger Sicherheit Agglutination hervorzurufen, wenn auch die Wartezeit auf 24 Stunden ausgedehnt wurde. Kalbsblut zeigte die gleiche Erscheinung. (Von Abrusextrakt 1:50 genügte dagegen 1 ccm, um eine sofort einsetzende, nach 1 Stunde totale Agglutination im Rinderblute zu erzeugen.)

10. Huhn. 10 mg B-A-P (enthalten in 1 ccm Lösung) machten innerhalb 20 Minuten 5 ccm Blutaufschwemmung blutkörperchenfrei filtrierbar (Verdünnung 1:600). Nach 20 Stunden fand sich noch bei 12000facher Verdünnung totale sehr feste Agglutination. Mit weiteren Verdünnungen wurde nicht geprüft.

11. Taube. Auf Zusatz von 10 mg (1:600) ist aus 5 ccm Blutsuspension schon nach 5 Minuten ein klares Filtrat zu erhalten; bei 1 mg (1:6000) desgleichen nach 1 Stunde 0,1 mg (in 1 ccm) bewirkte in einem Falle bereits nach 2 bis 3 Stunden, bei einer Wiederholung erst nach mehr Stunden eine totale Agglutination in 5 ccm Suspension; das bedeutet also eine 60000fache Verdünnung. Bei einer solchen von 1:120000 trat allerdings keine Spur mehr von einer Verklumpung auf, selbst nicht in 20 Stunden.

12. Sperling. Bei Verdünnung 1:6000 rasch (15 Minuten) teilweise, aber nur langsam (18 Stunden) totale Agglutination der Blutsuspension.

13. Frosch. 9 ccm einer 2%igen Blutaufschwemmung + 1 ccm (entsprechend 10 mg) B-A-P-Lösung (mithin Verdünnung 1:1000). Nach wenigen Sekunden begann zwar die Agglutination, führte aber innerhalb 3 Stunden nicht zur Bildung eines zusammenhängenden Koagulums.

14. Fisch (Karpfen). Die Blutsuspension erwies sich als unempfindlich gegen das Bohnenagglutinin, trotzdem sogar die geringe Verdünnung 1:350 gewählt wurde. Es stimmt in diesem Punkte somit das Karpfenblut mit dem des Rindes überein.

3. Wirkung auf intakte rote Blutkörperchen.

Intakte Erythrocyten wurden durch Absetzenlassen aus defibriniertem Blute gewonnen, mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit dieser dann aufgeschwemmt zu einer $2^1/_2$ %igen Suspension, die ungefähr der 5%igen Suspension des defibrinierten Blutes entspricht.

1. Pferdeblutkörperchen. In 5 ccm der Suspension bewirkten innerhalb 2 Stunden von B-A-P (in je 1 ccm gelöst enthalten) 1 mg totale, $^1/_2$ mg fast totale, 1,30 mg noch geringe Agglutination.

Die Grenze für die völlige Verklumpung liegt danach zwischen 1:6000 und 1:12000, diejenige für partielle nahe bei 1:180000. Bei verlängerter Inkubationszeit würde mit der größten Wahrscheinlichkeit auch hier, wie bei der 5%igen Blutsuspension nach 14 Stunden, noch eine Verdünnung 1:48000 Total-Agglutination herbeigeführt haben.

2. Kaninchenblutkörperchen. Eine annähernde Grenzbestimmung wurde nicht vorgenommen. 5 ccm der Aufschwemmung ergaben auf Zusatz von 1 ccm Lösung (entsprechend 1 mg B-A-P) nach 45 Minuten bereits ein klares Filtrat, d. h. die Agglutination war in diesem Falle total bei einer Verdünnung 1:6000.

3. Hühnerblutkörperchen. Bei einer Versuchsreihe mit $2^1/_2$-%iger Suspension wurde nach 5 Stunden abgelesen: Totale Agglutination noch bei 1:26666; Grenze für die partielle jenseits von 1:60000. In einer anderen Versuchsreihe mit 5%iger Blutkörperchenaufschwemmung ließ sich nach 20 Stunden erkennen: Totale Agglutination noch bei 1:12000; nicht unbeträchtliche partielle bei 1:30000, ja sogar 1:60000. Auf zwischen 1:12000 und 1:30000 liegende Werte wurde nicht geprüft.

4. Karpfenblutkörperchen: Eine in 2 ccm physiol. Kochsalzlösung enthaltene Menge von 20 mg B-A-P hatte nach 6 Stunden etwas Agglutinationähnliches in 5 ccm der Suspension hervorgebracht. Jedoch ließ sich durchaus nicht mit Bestimmtheit diese Veränderung als echte Agglutination deuten, da sich ganz und gar nicht, in der gewöhnlichen Weise ein fester Bodensatz gebildet hatte. Dem Fischblutserum scheint demnach eine Agglutination verhindernde Kraft nicht innezuwohnen, sondern die Inagglutinabilität liegt in Eigenschaften der Karpfenblutkörperchen selbst begründet.

4. Wirkung auf mit Formalin gehärtete Erythrocyten.

Versuch 1. Katzenblutkörperchen, 2 × 24 Stunden in einem großen Überschuß von 3,6%igem Formalin gehärtet, dann durch Waschen vom Formalin befreit und in physiol. NaCl-Lösung $2^1/_2$%ig, also etwa 5%igem Blute entsprechend, suspendiert. Gläschen I: 10 ccm Suspen-

sion als Kontrolle; Gläschen II: 10 ccm Suspension + 1 ccm einer 1%igen B-A-P-Lösung. Nach 15 Stunden haben sich die Körperchen in II vollständig auf den Boden abgesetzt; in I sind sie auch gesenkt, aber weit weniger dicht. Nach Aufschütteln fallen sie in II binnen wenigen Minuten zu Boden, in I dagegen erst nach Stunden. Ein zusammenhängender Kuchen, zu welchem die intakten Erythrocyten zusammengeballt zu werden pflegen, hatte sich jedoch nicht gebildet.

Versuch 2. Katzenblutkörperchen, 4 Monate hindurch unter 3,6%igem Formalin gehärtet; sie bilden am Grunde des Gefäßes einen braunen, festen Satz, von dem sich das Formalin bequem völlig abgießen läßt und der sodann durch kräftiges Schütteln und Losreiben mit einem Glasstabe mit physiol. Kochsalzlösung zu einer gleichmäßigen, etwa $2^1/_2$%igen Suspension aufgeschwemmt wird.

I. 5 ccm dieser Suspension zur Kontrolle ohne Zusatz
II. 5 „ „ „ + 4 ccm B-A-P-Lösung (entspr. 20 mg)
III. 5 „ „ „ + 2 „ „ („ 10 „)
IV. 5 „ „ „ + 1 „ „ („ 5 „)
V. 5 „ „ „ + 2 „ „ („ 1 „)
VI. 5 „ „ „ + 1 „ „ („ 0,5 „)
VII. 5 „ „ „ + 2 „ „ („ 0,1 „)

Bei II bis IV sofortiger Beginn einer Art von Agglutination bemerkbar; nach 10 Minuten hat sich der größte Teil der Blutkörperchen als flockiger Niederschlag am Boden dieser Gläschen abgesetzt, die überstehende Flüssigkeit ist noch leicht bräunlich getrübt. Nach 3 Stunden hat sich in allen Gläschen, auch in der Kontrolle, ein Bodensatz gebildet, der sich durch einfaches Umkehren der Gläschen wieder vollständig löst, bei II bis IV darauf am schnellsten, in der Kontrolle am langsamsten, wieder sich zu Boden senkt. Nach 24 Stunden status idem.

Versuch 3. Gleiche Blutkörperchen wie bei 2.
I. 5 ccm der Suspension zusatzfrei,
II. 5 „ „ „ + 2 ccm der B-A-P-Lösung (20 mg).

Sehr bald sinken in II die Blutkörperchen zu Boden, eine nur leicht bräunlich getrübte Flüssigkeitsschicht über sich lassend. Nach $^1/_2$ Stunde werden beide Proben filtriert: Bei I wird das Filter schwach braun gefärbt, das Filtrat ist dunkelbraun, stark trübe, fast wie vor dem Filtrieren. Bei II erhält das Filter einen dicken, dunkelbraunen, glänzenden Überzug; das Filtrat ist nur etwas hellbraun getrübt. Diese Trübung setzt bald ab; die darüberstehende Flüssigkeit ist klar.

Ergebnis: Auch auf rote Blutkörperchen, die 2 Tage, ja auch auf solche, die 4 Monate lang mit 3,6%igem Formaldehyd gehärtet wurden, übt das Bohnenagglutinin eine Einwirkung aus. Diese zeigt sich namentlich in der Vermehrung der Senkungsgeschwindigkeit. Größere zusammenhängende Ko-

agula werden nicht gebildet,[1]) es kommt nur zu einer geringen Verklebung, infolge deren die Blutkörperchen durch die Filterporen allergrößtenteils nicht mehr hindurchgehen können.

Guyot[2]) fand u. a. auch für Bohnenagglutinin bezüglich der Agglutinabilität und des Agglutinationsmodus keinen Unterschied zwischen normalen und 24 Stunden lang mit Formalin gehärteten Blutkörperchen. Für länger gehärtete Erythrocyten muß nach vorstehendem ein derartiges völliges Übereinstimmen von der Hand gewiesen werden.

5. Wirkung auf Stromata der Erythrocyten.

Die bereits von Stillmark (l. c.) festgestellte, von v. Liebermann[3]) und Guyot[4]) neuerdings bestätigte Tatsache, daß den Angriffspunkt des Ricin-Agglutinins die Stromata der roten Blutkörperchen bilden, ließ sich auch für das Bohnenagglutinin als gültig erwarten. In diesem Sinne wurden folgende Versuche ausgeführt.

Versuch 1. Von defibriniertem Kaninchenblute wird das Serum soweit als möglich abpipettiert, die zurückbleibende Blutkörperchenmasse mit der zehnfachen Menge Aq. dest. versetzt, geschüttelt und einmal durch Papier filtriert. Da die Stromata der Blutkörperchen nur zum kleineren Teile von einem gewöhnlichen Filter zurückgehalten werden, während der größere Teil in das rote Filtrat übergeht, wurde meist von mir nicht filtriert, sondern der beim Stehen sich bildende weiße Bodensatz verwendet, nachdem er mit physiol. NaCl-Lösung gemischt worden war. Von diesem werden nun aufgestellt:

I. 5 ccm als Kontrolle,
II. 5 „ + 2 ccm B-A-P-Lösung (20 mg),
III. 5 „ + 1 „ „ (10 „).

Bei II und III sofort Bildung eines Niederschlages bemerkbar. Nach 24 Stunden in allen Gläschen ein Bodensatz, der sich bei I auf einmaliges Umkehren scheinbar gänzlich löst, so daß die Flüssigkeit ein vollständig homogenes Aussehen zeigt. Bei II und III wird durch die Prozedur der Bodensatz feinflockig in der Flüssigkeit verteilt und setzt sich, als diese verdünnt wird, ziemlich schnell wieder ab als voluminöse Masse. Durch Filtrieren gelingt es unschwer, den nahezu farblosen Niederschlag, d. h. die agglutinierten Stromata, zu isolieren.

---

[1]) Dasselbe wurde von v. Liebermann (Sind Toxine Fermente? Deutsche med. Wochenschr. 1905, 1301) für Ricin beobachtet.

[2]) Centralbl. f. Bakt. 48, Heft 3, 1908.

[3]) Archiv f. Hygiene 62, Heft 4, 1907.

[4]) Centralbl. f. Bakt. 48, Heft 3, 1908.

Versuch 2. Mit Bestandteilen des Hühnerblutes.
I. 5 ccm Serum als Kontrolle,
II. 5 „ „ + 1 ccm B-A-P-Lösung (10 mg),
III. 5 „ einer unfiltrierten 5%igen Lösung von Blutkörperchen in Aq. dest. als Kontrolle,
IV. 5 ccm dieser Lösung + 1 ccm B-A-P-Lösung (10 mg).

Nach 24 Stunden sind I und II unverändert klar, ohne Bodensatz; bei III ist das Stroma feinkörnig ausgefallen; bei IV liegt am Boden ein kompaktes, fast weißes Gerinnsel, bestehend also aus den agglutinierten Stromata.

Versuch 3. Katzenblut wird durch Aq. dest. hämolysiert. Die dabei frei gewordenen Stromata werden isoliert und in Aq. dest. wieder suspendiert. I. 5 ccm dieser Suspension + 1 ccm physiol. NaCl-Lösung: Keine sichtbare Veränderung innerhalb 1 Stunde. II. 5 ccm der Suspension + 20 mg gelöstes B-A-P: Sofort entsteht ein ganz weißer, keinen zusammenhängenden Klumpen bildender Niederschlag. III. 5 ccm der Suspension + 1 mg B-A-P: Nach 1 Stunde ein voluminöser feinflockiger Niederschlag. Eine Wiederholung mit Suspension der Stromata in physiol. NaCl-Lösung führt zu denselben Erscheinungen. In den Kontrollen (I) fallen die Stromata auch schließlich aus, aber ungemein viel langsamer und weniger flockig.

Versuch 4. Stromata von Katzenblutkörperchen werden 2 Tage lang mit 3,6%igem Formalin fixiert und dann in physiol. NaCl-Lösung suspendiert. Ein Zusatz von größeren Dosen B-A-P bewirkt, daß das Stroma schon nach 5 Minuten zu sichtbaren Flocken zusammengeballt ist, während es in der Kontrollprobe (Zusatz von 1 ccm physiol. NaCl-Lösung) nach dieser Zeit noch vollkommen fein suspendiert ist.

Ergebnis: In ganz gleicher Weise, wie bei den seither bekannten pflanzlichen Agglutininen, bildet auch für das Bohnenagglutinin der in destilliertem Wasser unlösliche Teil der roten Blutkörperchen, d. h. das Stroma, den Angriffspunkt bei der Agglutination. Isolierte Stromata zeigen jedoch gegenüber den intakten Erythrocyten den Unterschied, daß sie nicht zu einem kompakten Klumpen, sondern zu vielen kleinen Klümpchen zusammengeballt werden. Durch Formalin gehärtete Stromata bleiben dem Einfluß des Agglutinins auch noch unterworfen. — In Hühnerblutserum tritt keine Präcipitation infolge der Anwesenheit kleiner Mengen von Bohnenagglutinin ein.

6. Wirkung auf gelöstes Hämoglobin.

In Lösungen von Hämoglobin, die vermittels Aq. dest. aus den roten Blutkörperchen dargestellt wurden, zeitigte ein Zusatz von B-A-P-Lösung niemals eine Wirkung; weder in Ge-

stalt einer Niederschlagsbildung, noch in irgendeiner anderen Weise.

Ergebnis: Zu einer regelrechten Agglutination mit umfassender inniger Verklebung der Erythrocyten ist also deren Integrität erforderlich. Ob für die abweichende Erscheinung an den isolierten Stromata der Austritt des Hämoglobins verantwortlich zu machen ist, muß, zumal dieses auf Phasin nicht reagiert, als sehr fraglich hingestellt werden. Vielmehr ist wohl hierbei zu berücksichtigen, daß bei der Auflösung der roten Blutkörperchen nicht etwa eine quantitative Teilung in Hb und alles übrige (= Stroma) erfolgt, sondern daß wir bei dieser Auflösung drei Teile unterscheiden müssen: 1. das Hb, 2. das ausfallende Stromaeiweiß, 3. das in Lösung gehende Lecithin, welches wohl auch einen Teil des Cholesterins mit in Lösung hält. Das des Lecithins beraubte Stromaeiweiß verhält sich aber den Agglutininen gegenüber ganz anders als die in den intakten Blutkörperchen vorhandene chemische Verbindung von Lecithin + Cholesterin + Stromaeiweiß. Bei der Härtung mit Formalin bleiben Lecithin und Cholesterin unverändert, aber das Stromaeiweiß geht eine chemische Verbindung mit dem Formalin ein, welche seine physikalischen Eigenschaften schwer alteriert.

7. Wirkung auf Eiterkörperchen.

Vom Menschen stammender, 1 Tag alter Eiter wird mit physiol. Kochsalzlösung gewaschen und dann in solcher Lösung 5%ig suspendiert. Zusatz von 2 bis 0,5 mg B-A-P (gelöst) bewirkt innerhalb kurzer Zeit, nach deren Verlauf die Kontrolle noch unverändert ist, eine merkbare Zusammenballung der Eiterkörperchen und baldiges Absetzen der Klümpchen am Glasboden. Aufschütteln beseitigt die Erscheinung; sie kehrt jedoch nach 15 bis 20 Minuten zurück. Also auch die Leukocyten werden durch das Phasin zu einer Art von Verklumpung und zum schnellen Ausfallen aus der Suspensionsflüssigkeit gebracht.

8. Wirkung auf Zellbrei von tierischen Organen.

1. Leberzellen. Völlig blutfreie Leberzellen einer Katze werden in physiol. Kochsalzlösung suspendiert und je 5 ccm dieses Gemisches in

Gläschen gefüllt. Während 2 Gläschen als Kontrollen ohne Zusatz bleiben, werden zu drei anderen je 10, 2 und 1 mg B-A-P (gelöst) hinzugefügt. Nach 5 Stunden haben sich in letzteren Proben die Zellen zu einem zusammenhängenden Klumpen vereinigt, der durch mäßiges Schwenken nicht zu zerteilen ist; in den zwei Kontrollen ist jede Zelle einzeln geblieben Die Verklebung ist bei 10 mg sehr fest, bei 2 mg minder stark, bei 1 mg noch schwächer, hier auch nicht total. Energisches Umschütteln zerteilt die Klumpen zwar, aber sie kleben nach $^1/_2$ Stunde am Boden wieder zusammen. Die mikroskopische Struktur dieser Zellen ist, im Gegensatz zu denen der Kontrollen, was die Peripherie der Zellen anlangt, gar nicht mehr zu erkennen, nur die Kerne sind noch erhalten.

Ein analoger Versuch mit Hundeleberzellen (mit frischen sowohl als auch mit 24 Stunden lang gehärteten) lieferte ein analoges Resultat.

Bei einem Versuche mit Hühnerleberzellen erwies sich der Glykogengehalt als Hindernis gegen die Wirkung des Agglutinins. Erst als das Glykogen durch Auslaugen mit Wasser ziemlich beseitigt war, zeigten sich auch hier die eben beschriebenen Erscheinungen, jedoch nur auf Zusatz großer Mengen (50 mg in 5 ccm gelöst auf 5 ccm Zellsuspension) des B-A-P. (In diesem Falle gemachte Vergleichsversuche mit Lösungen von Ricin, Abrin, Crotin, Robin ließen das Ricin wirksamer als das B-A-P erscheinen.)

2. Nierenzellen. Ein junger Hund wird entblutet und aus den blutfreien Nierenzellen mit physiol. Kochsalzlösung eine Suspension hergestellt. Davon je 5 ccm. Mit 2 und 1 ccm einer 1%igen B-A-P-Lösung versetzte Proben lassen nach $1^1/_2$ Stunden starke Agglutination erkennen; in den Kontrollen keine Veränderung.

3. Dünndarmschleimhautzellen. Aus dem Dünndarm desselben Tieres gewonnene Mucosazellen, in physiol. NaCl-Lösung suspendiert, zeigen auf Zusatz von 10 und 20 mg B-A-P zu 5 ccm nicht die geringste Beeinflussung, selbst nicht nach Verlauf von 24 Stunden.

Ergebnis: Analog wie durch Ricin, Abrin, Crotin, Robin[1]) werden die in physiol. NaCl-Lösung suspendierten Zellen einzelner Körperorgane durch Phasin agglutiniert und verändert. Dies wurde für Katzen-, Hunde-, Hühnerleberzellen und für Hundenierenzellen ermittelt. Glykogengehalt der Leberzellen wirkt hindernd auf die Beeinflussung, 24stündige Härtung dagegen kaum. Auf Zellen der Dünndarmschleimhaut (des Hundes) vermag das B-A-P in vitro keine verändernde Wirkung auszuüben. Diese Resistenz des Darmepithels, die in anderer Weise für Abrin schon von Répin[2]) dargetan worden

[1]) Lau, Über veget. Blutagglutinine. Diss. Rostock 1901.

[2]) Répin, Annales de l'Inst. Pasteur 9, 517, 1895.

ist, ist vielleicht auf den Gehalt an Mucin zurückzuführen, welcher somit eine von der Natur für diese funktionswichtigen Zellen und infolgedessen auch für den Gesamtorganismus getroffene Schutzeinrichtung bildet.

9. Wirkung auf Milch.

Von frischer roher Kuhmilch bleiben 5 ccm zur Kontrolle zusatzfrei; 3 andere Portionen von je 5 ccm werden mit 2, 1, 0,5 mg B-A-P (in Lösung) versetzt und alle Gläschen in den Thermostaten ($38^1/_2{}^0$ C) eingesetzt. Innerhalb $1^1/_2$ Stunden zeigte sich keine Wirkung in Gestalt einer Gerinnung, wie diese nach Elfstrand und Lau auf Zusatz von Ricin, Crotin, Abrin zu der Milch eintritt. Ob gerade besonders die Milch der Kuh, deren Blutkörperchen als inagglutinabel erkannt worden sind, diese Resistenz gegen das Bohnenagglutinin besitzt, oder ob auch die Milch anderer Tiere sich ebenso verhält, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

10. Wirkung auf gelöste Eiweißstoffe.

Versuch 1. Von je 3 ccm (a, b, c) einer anscheinend klaren, serösen, gelblich gefärbten Kniepunktionsflüssigkeit bleibt a ohne Zusatz, zu b wird 1 ccm physiol. NaCl-Lösung, zu c 1 ccm B-A-P-Lösung (entsprechend 10 mg) hinzugefügt.

Nach 48 Stunden bei a und b ganz geringer, bei c stärkerer Bodenbelag, sonst keine Veränderung. Die Prüfung der Bodensätze mit frischer Lösung von Guajaconsäure + H_2O_2 liefert Blaufärbung; die Bodenbeläge bestehen demnach wohl nur aus Blutkörperchen, die bei c eine Agglutination erfahren haben.

Versuch 2. Zerrührtes Hühnereiweiß wird mit physiol. NaCl-Lösung auf das doppelte Volumen verdünnt und filtriert. Von diesem Filtrat bilden 5 ccm die Kontrolle, weitere je 5 ccm werden mit 2 ccm und 1 ccm B-A-P-Lösung (entsprechend 20 und 10 mg) versetzt. Selbst nach Verlauf von 24 Stunden ist keine Veränderung erkennbar.

Versuch 3. 1,0 g Eukasin wird mit 100 ccm physiol. Kochsalzlösung eine Zeitlang gekocht. Die Flüssigkeit erscheint gleichmäßig milchweiß getrübt ohne erkennbare Partikel; sie reagiert neutral. Von dieser Lösung bleiben 5 ccm als Kontrolle ohne Zusatz, zu je 5 ccm werden 2 und 1 ccm B-A-P-Lösung (entsprechend 20 und 10 mg) gefügt, weitere 5 ccm werden schwach alkalisch gemacht und dann mit 2 ccm (20 mg) B-A-P-Lösung versetzt. Nach 24 Stunden in keinem der Gläschen ein Niederschlag oder sonst irgendeine Veränderung.

Ergebnis: Hatte schon das Hühnerserum (s. o.) sich als unbeeinflußbar durch Phasin erwiesen, so zeigten dasselbe nega-

tive Verhalten ferner andere gelöste Eiweißstoffe enthaltende Flüssigkeiten: seröses Exsudat, Hühnereiweißlösung, Caseinlösung, indem hier weder eine Präcipitation noch eine Gerinnung eintrat.

11. Wirkung des Bohnenagglutinins auf das Williamssche Froschherz.

Frisch dargestellte Stammlösung 1:5 wird in einer Menge von 3 ccm zu 150 ccm Ringerscher Lösung zugesetzt und durch das Herz länger als eine halbe Stunde durchgeleitet, ohne daß sich eine merkbar schädigende Wirkung zeigt. Eher werden die Bewegungen des Herzens, welches schon $1^1/_2$ Stunden lang am Williamsschen Apparate geschlagen hatte, kräftiger.

Ergebnis: Bohnenagglutinin in enormer Konzentration hat binnen $^1/_2$ Stunde auf das blutfrei durchströmte Froschherz keinerlei schädigende Wirkung. (Nach Stillmark (l. c.) ist auch Ricin ohne Einwirkung auf das blutfreie Froschherz).

12. Wirkung auf den ganzen lebenden Organismus.

Der allgemein bekannten und bereits besonders betonten Ungiftigkeit der Phaseolus-vulgaris-Samen entsprechen die Versuchsresultate von Landsteiner und Raubitschek (l. c.), nach denen weder durch Einträufeln der Extrakte in den Bindehautsack des Kaninchenauges Reizerscheinungen, noch durch intraperitoneale Einverleibung von Gramm-Dosen bei verschiedenen Tieren Allgemeinsymptome veranlaßt wurden (nur eine Maus starb 48 Stunden nach der Injektion von 2 g.)

Bei unseren Versuchen mit B-A-P, gelöst in physiologischer NaCl-Lösung, zeigte sich folgendes:

I. Großes Kaninchen (3200 g; gravid.). Injiziert intravenös (Ohrrandvene) am 1. Tag 40 mg (in 2 ccm), 2. und 3. Tag je 80 mg (in je 4 ccm). 2 Stunden nach der letzten Injektion Tier noch normal. Am anderen Morgen tot. Sektionsbefund: In den Lungen zahllose schwarzrote Stellen, die den Eindruck von Hämorrhagien (Embolien?) machen. Auch unter dem Perikard, entsprechend dem Verlauf der Koronargefäße solche Flecke. Nierenrinde blaurot geschwollen. Einzelne kleine, zum Teil anscheinend ältere Blutaustritte in der Magenschleimhaut.

Herzblut, sorgfältig aufgefangen, wird prompt agglutiniert von relativ kleinen Dosen B-A-P-Lösung.

II. Kleines Kaninchen (910 g). Mit einer Zwischenpause von 19 Stunden je 10 ccm einer 1%igen B-A-P-Lösung, also im ganzen

200 mg B-A-P, subcutan. Tod des Tieres 12 bis 24 Stunden nach der letzten Injektion. Sektionsbefund: Makroskopisch in der Lunge, der Bauchmuskulatur, an der Mageninnenwand ganz beschränkte Hämorrhagien. Mesenterium intakt. Harn alkalisch, ohne Eiweiß, agglutiniert Schweineblut nicht.

III. Meerschweinchen (300 g). Subcutan
am 1. Tage 5 ccm Lösung (entsprechend 5 mg B-A-P),
„ 2. und 3. Tag je 5 ccm Lösung (entsprechend je 50 mg B-A-P),
„ 4. Tag 10 ccm Lösung (entsprechend 100 mg B-A-P).

Etwa 4 Stunden nach der zweiten Injektion 2 Foeten abortiert; Allgemeinbefinden aber anscheinend unverändert. Tod etwa 12 Stunden nach der letzten Einspritzung. Sektionsbefund: Im Mesenterium längs der Gefäße zahlreiche kleine Blutextravasate, desgleichen an der Innenseite der Bauchwand. Sonst makroskopisch keine Veränderungen.

IV. 2 Fröschen (Eskulenten) werden gleichzeitig je 100 mg B-A-P subcutan injiziert. Nach Verlauf von 24 Stunden der eine tot. Sektionsbefund: Keine Veränderungen an den Organen. Der überlebende Frosch erhält wiederum 100 mg subcutan und ist nach 2 Stunden tot. Sektionsbefund: Unter der Serosa des Dünndarms zahlreiche, senkrecht zur Längsaxe des Darmes gerichtete Blutaustritte (Gefäßverlegungen?). Mucosa des Darmes normal.

V. Eine Kröte (Bufo cinereus) bekommt eine Subcutaneinspritzung von 150 mg B-A-P auf einmal. Nach 2 Stunden ist das Tier im Sterben; das Herz schlägt nur noch schwach. Sektionsbefund: Blut aller Organe ist agglutiniert; die unter die Rückenhaut gespritzte B-A-P-Lösung ist gänzlich resorbiert.

Aus diesen 5 Versuchen ersieht man, daß durch enorme Dosen unserer Substanz sich wohl Giftwirkungen erzielen lassen, bei Warmblütern, namentlich bei direkter Einspritzung ins Venensystem und bei Kröten auch subcutan. Indessen können bei so großen Dosen auch Nebenumstände mitgewirkt haben, wie namentlich mechanische Gefäßverlegungen durch die trotz Filtration doch nicht immer völlig klaren Lösungen. Hier müssen durchaus noch weitere Versuche an recht verschiedenen Tierarten gemacht werden. Über diese wird später publiziert.

Daß trotz großer Dosen bei manchen Tieren keine Vergiftung aber auch keine Bildung von Gegengift erfolgte, zeigen folgende Versuche:

VI. Junge Katze (800 g). Subcutan an zwei aufeinander folgenden Tagen je 500 mg B-A-P. Der in dieser Zeit produzierte Urin ist klar, enthält weder Albumen noch Zucker und besitzt weder agglutinierende noch antiagglutinierende Eigenschaften. 2 Stunden nach der letzten Injektion völliges Wohlbefinden; das Tier wird entblutet. Das Blut verhält sich dem Phasin gegenüber wie normales: in 5%iger Suspension

bei 6000facher Verdünnung des B-A-P innerhalb 5 Stunden alle Blutkörperchen total verklebt; diese auch durch Extrakt aus Abrus precatorius und aus Vicia hybrida agglutinabel.

VII. Taube (mittleres Gewicht) subcutan injiziert am

1. Tag 40 mg B-A-P,
2. „ 80 „ „
3. „ 200 „ „
4. und 5. „ je 250 mg B-A-P.

Tier bleibt gesund, wird durch Entbluten getötet. Blut wird ebenso wie normales leicht agglutiniert.

Ergebnis: Gerade Katze und Taube, deren Blutkörperchen in vitro ganz außerordentlich empfindlich gegen das Phasin sind, blieben, trotzdem gerade ihnen die höchsten Dosen (1000 bzw. 620 mg) verabreicht wurden, durch diese unbeeinflußt. Auch die Bildung eines Antiagglutinins im Blute der Tiere zeigte sich nicht; ferner kam es nicht zu Ausscheidung von Agglutinin durch die Nieren. Und doch gelingt es selbst bei innerlicher Darreichung von Bohnen unter Umständen deren Giftigkeit zu erweisen. Nach Geh.-Rat Kellner[1]) starb ein Schwein, welches ausschließlich mit Bohnen gefüttert wurde, innerhalb kurzer Zeit. Da indessen für gewöhnlich wohl nie ein Tier und noch weniger ein Mensch ausschließlich Bohnenkost — und noch dazu roh — genießen wird, ist die Gefahr der Bohnenvergiftung der Haustiere und des Menschen fast Null. Selbst bei subcutaner Einverleibung sind heroische Dosen erforderlich, um toxisch zu wirken. Für die Landwirtschaftslehre ergibt sich von neuem die Richtigkeit gemischter Kost.

13. Immunisierungsversuche nach Cornevin.

Von Cornevin[2]) ist berichtet worden, daß man durch zweistündiges Kochen eines mit 10% igem Salzwasser gewonnenen, filtrierten Extraktes aus Ricinusölkuchen eine Flüssigkeit erhält, die, Tieren subcutan eingespritzt, diese gegen Ricin immun mache. Auf diesem Wege wäre also eine Immunisierung gegen Ricin, die nach der Ehrlichschen Methode doch immerhin schwierig und umständlich ist, geradezu spielend leicht gemacht; indessen hat wohl bisher, soweit ich mich orientieren konnte,

[1]) Mündliche Mitteilung an Herrn Prof. Kobert.

[2]) Annales agronomiques 23, 289; referiert in Biedermanns Centralbl. f. Agrikulturchemie 1898, 812.

keiner von den anderen Autoren, die über Ricin und Ricinimmunität gearbeitet haben, das Verfahren Cornevins nachgeprüft. Ich machte daher eigene Versuche.

I. 1 g B-A-P wird mit 100 ccm allerdings nicht 10% iger, sondern physiologischer NaCl-Lösung 2 Stunden lang gekocht, dann zur Ausschaltung des durch das Kochen ausgefällten Eiweißes filtriert. Das Filtrat (F) reagiert auf die verschiedenen vorgenommenen Eiweißproben positiv, enthält also einen modifizierten Eiweißkörper, der durch das Kochen nicht ausgefällt worden ist. Reagensgläschen mit je 5 ccm Kaninchenblutsuspension:

I. Als Kontrolle ohne Zusatz,
II. + 1 ccm von F,
III. + 1 „ „ F + 1 mg B-A-P (in 1 ccm),
IV. + 5 „ „ F + 1 „ „ „ 1 „
V. + 1 mg B-A-P (in 1 ccm).

Sehr bald ist in III bis V Agglutination zu bemerken; sie ist nach 4 Stunden vollständig. Bei I und II keine Veränderung.

II. Um einem eventuell zu erhebenden Einwande, daß doch ein Antiagglutinin gebildet sein könne, daß diesem aber Zeit gelassen werden müsse, sich in den Blutkörperchen zu verankern, zu begegnen, wurden je 5 ccm Blutsuspension versetzt mit 5 ccm F und dazu erst nach 17 Stunden wirksame B-A-P-Lösung hinzugefügt. Es zeigte sich, daß die gekochte Lösung die Agglutination durch das ungekochte B-A-P auch in diesem Falle nicht hindert, ja sie sogar, nach einem Vergleiche mit Kontrollproben zu urteilen, etwas begünstigt.

III. Einem Kaninchen (1600 g) werden im Laufe eines Vormittags 30 ccm der gekochten Lösung F in 2 Portionen an verschiedenen Körperstellen unter die Haut gespritzt. 20 Stunden nach der letzten Injektion wird das ganz normale Tier, welches nur geringe Mengen Eiweiß im Harn ausgeschieden hat, durch Entbluten getötet. Das Blut wird defibriniert und in 5% iger Suspension mit einer 1% igen filtrierten aktiven B-A-P-Lösung versetzt. Gleichzeitig werden zum Vergleiche Proben mit der Blutsuspension von einem anderen Kaninchen angesetzt. Selbst bei Verdünnung 1:3500 erfolgt anstandslos Agglutination, und zwar bei beiden Blutsuspensionen in gleichem Maße innerhalb gleicher Zeiträume.

IV. Wie für Ricin, Abrin, Crotin bekannt ist, ruft das Immunserum in einer Lösung des betreffenden Giftes eine flockige Ausfällung hervor. Eine derartige Erscheinung trat nicht ein, als 2 ccm Serum des Kaninchen (III) mit 1 ccm wirksamer 1% iger B-A-P-Lösung versetzt wurden.

Ergebnis: Durch 2stündiges Kochen einer 1% igen Lösung (in 0,9% iger NaCl-Lösung) von B-A-P wird letzteres unwirksam gemacht, ein agglutinationshemmender Stoff wurde durch das Kochen nicht erhalten. Ebenso wenig kann bei einem Kaninchen durch Injektion von 30 ccm der gekochten

Lösung binnen 20 Stunden eine Immunität gegen das hämagglutinierende Prinzip der Bohnen erzielt werden.

Eine in derselben Weise vorgenommene Prüfung mit Ricinlösung (in physiologischer NaCl-Lösung) zeitigte ein analoges negatives Resultat.

14. Verhalten des Phasins gegenüber der Erhitzung.

Hier ist zu unterscheiden, ob trocknes oder feuchtes Erhitzen stattfindet.

1. Lösung des B-A-P, 1 % ig in physiologischer Kochsalzlösung. Von dieser jedesmal eine Quantität im Reagensglase auf dem Wasserbade erhitzt und nach dem Erkalten zu den Suspensionen von Blut oder Blutkörperchen gesetzt. Ich gebe aus einer Zahl von Versuchen folgende Zusammenfassung (+ bedeutet Agglutination, — keine Wirkung):

90	Minuten	auf	65°		Kaninchen +
60	„	„	74°	bis 76°	„ +
225	„	„	75°	„ 80°	„ +
30	„	„	75°	„ 80°	Katze +
30	„	„	72°	„ 82°	Schwein +
30	„	„	84°	„ 86°	Katze —
10	„	„	85°	„ 87°	„ +
10	„	„	85°	„ 87°	Meerschweinchen[1]) —
10	„	„	87°	„ 88°	Katze +
30	„	„	85°	„ 90°	Schwein +
10	„	„	100°		Schwein —, Kaninchen —, Katze —

Ergebnis: Man sieht, daß erst bei über 90° die Grenze liegt, bei welcher Phasinlösungen ihre Wirksamkeit innerhalb kurzer Zeit verlieren. Ein Widerspruch findet sich insofern in den Versuchsergebnissen, als einmal schon nach $^1/_2$ stündigem Erhitzen auf 84° bis 86° Katzenblut nicht mehr agglutiniert wurde, während bei einer anderen Probe, bei der die Temperatur $^1/_2$ Stunde lang zwischen 85° und 90° erhalten wurde, sich noch ein positiver Ausfall für Schweineblut ergab. Die Tatsache, daß nach 10 minutigem Erhitzen auf 85° bis 87° 1 ccm der unverdünnten Lösung (entsprechend 10 ccm B-A-P) innerhalb 15 Stunden Katzenblut noch total agglutinierte, wohingegen selbst 3 ccm der nur 10 fach verdünnten Lösung (also entsprechend 3 mg) innerhalb 24 Stunden Meerschweinchenblutkörperchen auch nicht einmal spurweise zur Verklebung brachten, lehrt, daß durch das Erhitzen die Wirk-

[1]) Allerdings bei 1 bis 3 ccm der 10 fach verdünnten 1 % igen Lösung.

samkeit allmählich herabgesetzt wird. Mit absoluter Sicherheit werden durch Siedetemperatur die gelösten Agglutinine in kurzer Zeit zerstört.

2. Trockenes Erhitzen.

Erhitzung		Blutart	Totale Agglutination	
Temperatur	Dauer		nach wieviel Stunden	bei welcher Verdünnung
100°	1 Stunde	Kaninchen	7	1:6000
110°	1/4 „	„	23	1:1200
110° bis 113°	4 Tage	„	—	—
123°	25 Minuten	„	19	1:600
123° bis 130°	2 1/2 Stunden	Huhn	15	1:200

Ergebnis: Das B-A-P nahm zwar durch den Erhitzungsprozeß einen braunen Farbenton an und erlitt mit steigender Temperatur an Löslichkeit und, wie aus der Tabelle hervorgeht, an Wirksamkeit allmählich Einbuße, ging aber selbst bei einer nicht allzu lange währenden Temperatursteigerung auf 133° seiner Wirkung nicht ganz verlustig. Wohl hatte jedoch diesen Effekt eine 4 Tage hindurch fortgesetzte Erhitzung selbst nur auf 110° bis 113°.

15. Verhalten des Phasins gegenüber verdauenden Enzymen.

Pepsin, Trypsin und Papain, entweder in Aq. dest. oder in Glycerin 1%ig gelöst, auf Wirksamkeit geprüft durch Kontrollproben mit Fibrinflocken. Die Pepsinlösung wurde angesäuert mit HCl, die Trypsinlösung alkalisch gemacht mit Alkalicarbonat. Gewöhnlich wurde je 1 ccm der Fermentlösungen zu 9 oder 10 ccm B-A-P-Lösung gesetzt, die 9, bzw. 90, bzw. 100 mg B-A-P entsprachen. Die Proben wurden bis zu 4 Tagen im Thermostaten (38° bis 39°) belassen; in einem Versuche wurden sie im Anschluß an 3 tätigen Wärmebadaufenthalt noch weitere 4 Tage bei Zimmertemperatur dem Einflusse der Fermente ausgesetzt. Das Resultat wich von dem der übrigen Versuche nicht ab.

Ergebnis: Es stellte sich heraus, daß in keinem Falle die Anverdauung durch Pepsin, Trypsin und Papain auf die agglutinierende Wirksamkeit des Phasins zerstörend einwirkt. Denn wurde von den Flüssigkeiten 1 bis 2 ccm abgenommen und (die Trypsin und Pepsin enthaltenden wurden vorher neutralisiert) zu 5 ccm Blutsuspension gesetzt, so ergab sich stets prompte und, den Mengen des B-A-P

entsprechend, kräftige Totalagglutination. Bei einer genaueren quantitativen Untersuchung ließ sich ermitteln, daß B-A-P, welches 4 Tage lang der Trypsinwirkung unterworfen war, noch in Verdünnung 1:13332 eine $5^0/_0$ige Meerschweinchenblutsuspension binnen 24 Stunden total agglutinierte; desgleichen trotz 4tägiger Pepsineinwirkung bei 1:6666 völlig, bei 1:13332 fast völlig.

Der in dem B-A-P wirksame Phasinkomplex ist also bei Anwesenheit von überschüssigem Eiweiß verdauungsbeständig, so wie er sich auch bis zu einem gewissen Grade als relativ thermostabil dokumentiert hat. Die aktive Substanz konnte sogar aus der Verdauungsflüssigkeit durch Fällung mit Alkohol (āā) wieder abgeschieden werden und erwies sich beim neuen Lösen in physiologischer Kochsalzlösung als wirksam auf Schweine- und Taubenblut, auch wenn man die Verdünnung 1:6000 (berechnet auf die ursprüngliche Menge von B-A-P) wählte. Falls man von Eiweiß völlig befreites Phasin Verdauungsenzymen aussetzt, wird der Ausfall vielleicht ein ganz anderer sein, da offenbar die gebildeten Eiweißverdauungsprodukte schützend wirken. Über diesen Punkt müssen neue Versuche gemacht werden, die ich hierdurch nur andeuten will.

Es wäre wohl verfehlt, aus diesem Verhalten gegen Erhitzung und Verdauung bindende Schlüsse für oder gegen die Eiweißnatur des Bohnenagglutinins zu ziehen, widersprechen sich doch noch bei dem nach diesen Richtungen hin wesentlich eingehender untersuchten Ricin- und Abrinagglutinin die Meinungen. Wir können uns vorsichtig nur dahin aussprechen, daß das Phasin sich zwar stets bei der Darstellung wie ein Eiweiß verhält, in Wahrheit aber vielleicht entweder eine eiweißähnliche Substanz oder ein Enzym ist, das wie andere Enzyme sich leicht an Eiweißsubstanzen anhaftet.

16. Verhalten des Phasins gegenüber Konservierungsmitteln.

Ein schädigender Einfluß des Toluols, das in den meisten, und des Chloroforms, das in manchen Fällen angewandt wurde, um den Eintritt von Fäulnis hintanzuhalten, wurde

nicht beobachtet. Fluornatrium, welches die Wirkung von bakteriellen Agglutininen und Hämolysinen aufhebt, affizierte das Bohnenagglutinin ebensowenig.

Versuch: Katzenblut 10 ccm + physiologische NaCl-Lösung 165 ccm + 4% Fluornatriumlösung 25 ccm. I. 10 ccm dieses Gemisches als Kontrolle; II. 10 ccm Gemisch + 1 ccm B-A-P-Lösung (10 mg). Nach 15 Stunden in II totale Agglutination.

Inwiefern durch Formalin die Agglutination leidet, wenn seiner Einwirkung die agglutinable Substanz, die Blutkörperchen, unterworfen wird, wurde oben ausgeführt. Bezüglich des Effektes des Formaldehyds auf das Phasin der Bohnen[1]) ergab sich folgendes:

Versuch. 1%ige B-A-P-Lösung mit 3,6%igem Formalin āā versetzt; nach 3 Tagen geprüft. Innerhalb 20 Stunden vermochten sowohl 1 ccm, als auch $^1/_2$ und $^1/_5$ ccm dieser Flüssigkeit (entsprechend 5; 2,5; 1 mg B-A-P und 18; 9; 3,6 Formalin) in 5 ccm einer $2^1/_2$%igen Kaninchenblutkörperchen-Suspension vollständige Agglutination hervorzubringen.

Im Gegensatz zu diesen Resultaten stehen indessen die Ergebnisse eines anderen Versuches. Danach wurde mit einer B-A-P-Lösung, die mindestens 3 Wochen lang unter Formalin gestanden hatte, in Kaninchenblutsuspension selbst bei einem Verhältnisse 15 mg B-A-P: 5 ccm Suspension innerhalb 17 Stunden keine Agglutination erzielt.

Wir dürfen aus dem Angeführten wohl schließen, daß kurzdauernde Einwirkung geringer Mengen von Formaldehyd das Phasin nicht schädigt, langdauernde aber wohl.

Verhalten gegenüber Wasserstoffsuperoxyd.

Eine 1%ige B-A-P-Lösung wurde versetzt mit 3%igem H_2O_2 āā; nach 4 Tagen hatte sich ein dickflockiger, weißer Niederschlag ausgeschieden, die Flüssigkeit erschien opalisierend und roch unangenehm. Die Wirksamkeit wurde geprüft an je 5 ccm einer 5%igen frischen Kaninchenblutsuspension, und zwar wurde einerseits 1 ccm aus der opalisierenden Flüssigkeit abgehebert, andrerseits 1 ccm entnommen, nachdem durch Umschütteln der Niederschlag wieder fein in der Lösung verteilt war. Nach 16 Stunden fand sich in beiden Fällen totale Agglutination der Blutkörperchen. Wasserstoffsuperoxyd vermag danach die agglutinierende Wirkung des B-A-P nicht zu beseitigen und das Agglutinin nicht auszufällen.

---

[1]) Nach Guyot (Centralbl. f. Bakt. 47, Heft 5, 1908) schädigt Formalin das Hämagglutinin von Bakterien nicht.

Eine Wiederholung, bei welcher eine 1%ige B-A-P-Lösung erst 2 Wochen und dann 6 Wochen lang mit der gleichen Menge 3%igen neutralisierten Wasserstoffsuperoxyds am Licht gestanden hatte, ergab keine Schädigung der Agglutinationskraft.

Ergebnis: Toluol, Chloroform, Wasserstoffsuperoxyd, ja selbst Fluornatrium und kurzdauernde Einwirkung von Formaldehyd (3,6%ig) schädigen das Phasin kaum.

17. Einfluß verschiedener isotonischer Neutralsalzlösungen auf die Wirkung des Phasins.

Versuch 1. Katzenblut, je 1%ig suspendiert in 0,9%iger NaCl-Lösung (A) und in damit isotonischer Lithiumsulfatlösung (B):

I. 20 ccm von A zur Kontrolle,
II. 20 „ „ B „ „
III. 19 „ „ A + 1 ccm B-A-P-Lösung (10 mg),
IV. 19 „ „ B + 1 „ „ (10 „).

Bei III und IV fast gleichzeitig binnen 2 Stunden totale Agglutination. Bei I und II allmähliches Absetzen der Blutkörperchen ohne die geringste Hämolyse oder Agglutination.

Versuch 2. 5%ige Katzenblutsuspension, teils mit physiologischer NaCl-Lösung (A), teils mit 2,55%iger Jodkaliumlösung hergestellt.

I. 5 ccm von A zur Kontrolle,
II. 5 „ „ B „ „
III. 5 „ „ A + 1 ccm B-A-P-Lösung (10 mg),
IV. 5 „ „ B + 1 „ „ (10 „),
V. 5 „ „ B + 1 „ „ (1 „).

I und II setzen gleich langsam klar ab. Bei III und IV beginnt die Agglutination sofort und ist innerhalb gleicher Frist total. Bei V nach 3 Stunden nicht ganz völlige Agglutination.

Ergebnis: Das Phasin entfaltet seine Wirksamkeit also auch, wenn das Blut statt mit physiologischer Chlornatriumlösung mit der isotonisch konzentrierten Lösung eines anderen Neutralsalzes aufgeschwemmt wird.

18. Abspaltung des Phasins aus dem Agglutinat.

Versuch 1. Durch vollkommen neutral reagierende B-A-P-Lösung agglutinierte Erythrocyten aus 5 ccm einer 5%igen Kaninchenblutsuspension werden mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit leicht durch HCl angesäuerter physiologischer NaCl-Lösung durch Schütteln zu einer braunen Flüssigkeit gelöst. Neutralisieren mit Kaliumcarbonat bis zur spurweisen alkalischen Reaktion erzeugt in dieser einen

braunen Niederschlag, der abfiltriert wird. Das Filtrat wird zu gleichen Teilen zugesetzt zu

I. 5 ccm Kaninchenblutsuspension
II. 5 „ Hühnerblutsuspension
} 5%ig.

Bei I bald Agglutination bemerkbar. Nach 15 Stunden bei I totale, bei II partielle Verklumpung.

Wiederholung mit mehr Agglutinat lieferte ein Filtrat, nach dessen Zusatz auch bei Hühnerblutsuspension unmittelbar beginnende, nach $^1/_2$ Stunde totale Agglutination eintrat.

Versuch 2. Agglutinat von Kaninchenblut mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, darauf mit Aq. dest. hämolysiert. Die Hämoglobinlösung, vom Stroma abfiltriert und mit einigen Tropfen konzentrierter Kochsalzlösung versetzt, ergibt nichts von Agglutination auf Zusatz von Kaninchenblutkörperchen. Aus den fast entfärbten Stromata auf dem Filter mit angesäuerter Kochsalzlösung hergestellte Solution wirkt, neutralisiert, auf zugesetzte Kaninchenblutkörperchen augenblicklich total agglutinierend.

Versuch 3. Agglutinat von Kaninchenblut, gelöst in physiologischer Kochsalzlösung, die 1 Tropfen Natronlauge enthält. Neutralisieren mit schwach saurer 0,9%iger NaCl-Lösung läßt einen braunen Niederschlag entstehen. Die von diesem abfiltrierte Flüssigkeit wirkt weder auf Hühnerblutsuspension noch, schwach alkalisch gemacht mittels Natriumcarbonat, auf zugesetzte Kaninchenblutkörperchen agglutinierend.

Analoge Versuche wurden mit einem durchaus neutral reagierenden Ricinpräparat gemacht und zeitigten analoge Resultate.

Ergebnis: v. Liebermanns[1]) Angabe, daß aus ricinagglutinierten Blutkörperchen das Ricin durch Salzsäure vom Stroma wieder abspaltbar ist, wurde in jeder Hinsicht bestätigt. Das zu benutzende Ricinpräparat braucht jedoch nicht, wie v. Liebermann für wichtig hält, von saurer Reaktion zu sein. Einem neutralen B-A-P entstammendes Phasin kann in ganz analoger Weise durch verdünnte Salzsäure aus seiner Verbindung mit dem Stroma wieder frei gemacht werden und erweist sich dann sowohl der betreffenden als auch einer beliebigen anderen Blutart gegenüber als wirksam. Damit ist bewiesen, daß das Phasin nicht spezifisch wirkt, denn sonst könnte aus dem Kaninchenkörperchenagglutinat nur Kaninchenphasin wieder herausgelöst werden. Durch Natronlauge kann das Agglutinin aus seiner Vereinigung mit dem Stroma nicht gelöst werden; dies hat v. Liebermann für das Ricin ganz richtig

[1]) Arch. f. Hygiene 62, Heft 4, 1907.

angegeben; es gilt genau ebenso auch für Phasin. Aus diesen Versuchen den Schluß zu ziehen, das Phasin könne kein Enzym sein, weil Fermente nicht in den von ihnen gebildeten Endprodukten enthalten sein dürfen, erscheint mir nicht richtig, da ja möglicherweise das Phasin, Ricin usw. nur adsorbiert und mechanisch mit niedergerissen werden. Solches Mitniedergerissenwerden gehört aber gerade zu den wesentlichen Eigenschaften der Enzyme.

19. Anteil von Komplementen an der Agglutination.

5 ccm frisches Meerschweinchenblut werden auf dem Wasserbade $^1/_2$ Stunde lang auf einer Temperatur von 56 bis 57° erhalten, um das in dem Serum befindliche Komplement unwirksam zu machen. Durch diese Prozedur sind nun gleichzeitig die roten Blutkörperchen affiziert worden, jedoch gelingt es, durch Zusatz von 1 ccm 1%iger B-A-P-Lösung zu 5 ccm einer 5%igen Aufschwemmung dieses Blutes eine fast momentan beginnende Koagulation der Stromata hervorzurufen. (Kontrollversuch mit unerhitztem Blute liefert starke echte Agglutination.) War also schon vorher, zumal bei den Versuchen mit den gehärteten serumfreien Erythrocyten eine Beteiligung des Komplementes an dem Agglutinationsvorgang auszuschließen, so geht aus diesem Versuche mit Sicherheit hervor, daß das Agglutinin der Bohnen zu seiner Verankerung der im normalen Serum jederzeit enthaltenen Komplemente nicht bedarf. Das Phasin verankert sich ohne jedes Mittelstück direkt an die Blutkörperchen. Dazu stimmt, daß serumfreie mehrfach gewaschene Blutkörperchen z. B. von Kaninchen, Katze, Meerschweinchen usw. stets prompt agglutiniert wurden.

20. Aus anderen Bohnen rein dargestellte phasinartige Pulver.

Aus den Extrakten der Samen von Phaseolus vulgaris, Spielart Wachsbohne (Flageolet), ferner von Soja hispida und von Vicia Faba, Saubohne, wurden nach der für das B-A-P angewandten Methode Phasine gewonnen. Deren Agglutinationsvermögen läßt folgende Tabelle (S. 38) erkennen.

a) Das Wachsbohnen-Agglutinin enthaltende Pulver wirkte also auf Kaninchenblut und Hammelblut kräftiger als B-A-P; außerdem agglutinierte es deutlich Kalbsblut, spurweise Karpfenblut. Auf letzteres wirkte es in hoher Konzentration hämolytisch. Es präcipitierte nicht seröses Exsudat, Hühnereiweißlösung, neutrale und alkalische Eukasinlösung. Es verlor seine Wirksamkeit nicht durch 35tägiges Aufheben unter Formalin (3,6%) und unter Wasserstoffsuperoxyd (3%); monatelange Trockenaufbewahrung schien es etwas zu schädigen.

Blutart	Phasinartige Pulver aus			
	Wachsbohne		Sojabohne	Saubohne
Mensch	T 1:7000 XVII	P 1:12000 XVII	s. unten	
Katzenblutkörperchen	T 1:60000 XV			
Kaninchen	T 1:35000 XVI	P 1:70000 XV	P 1:3500 XV	T 1:1200 XV
Kaninchenblutkörperchen	T fast 1:6000 VI	P 1:35000 VI		
Meerschweinchen	T 1:12000 XXIII	P 1:60000 XXIII		
Hammel	T 1:6000 XXIII	P 1:60000 XXIII		—
Kalb	P 1:6000 VI			—
Karpfen	Spur P 1:600 IV	Hämolyse 1:450 IV	—	
Karpfenblutkörperchen			—	

b) Das Sojapräparat war in physiologischer Kochsalzlösung recht wenig löslich. Die Suspension wirkte unfiltriert bei einem Versuche auf menschliches Placentarblut in 3 Stunden partiell agglutinierend bei Verdünnung 1:1100. Bei einem anderen Versuche agglutinierte sie weder filtriert noch unfiltriert Blut vom erwachsenen Menschen. Karpfenblutkörperchen mit und ohne Serum blieben unbeeinflußt. Kaninchenblut zeigte sich agglutinabel, und zwar auch durch eine Aufschwemmung, die 4 Tage vorher mit H_2O_2 āā versetzt worden war.

c) Das aus Saubohnen bereitete Pulver versagte auf Hammel- und Kalbsblut vollständig, auf Kaninchenblut wirkte es einige Male nicht deutlich, in anderen Fällen indessen noch in Verdünnung 1:1100 total, auch wenn es 4 Tage lang unter H_2O_2 gestanden hatte.

Über die verschiedensten Spezies von Vicia und andere verwandte Pflanzen ist schon S. 234 bis 235 gesprochen worden; nur wurde aus ihnen das wirksame Prinzip nicht in reiner trockner Form dargestellt.

Mit einer Fortsetzung der in vorstehender Arbeit enthaltenen Versuche nach verschiedenen Richtungen hin ist Fritz Assmann unter Prof. Kobert beschäftigt.

Lebenslauf.

Am 17. Januar 1885 wurde ich, Otto Wienhaus, Sohn des verstorbenen Kaufmannes Ernst Wienhaus, zu Hagen in Westfalen geboren. Ich besuchte die Elementarschule, darauf das Realgymnasium meiner Vaterstadt und verließ letzteres Ostern 1904 mit dem Zeugnis der Reife. Ich widmete mich dem Studium der Medizin in Bonn, Straßburg und Rostock. Meiner Militärpflicht mit der Waffe genügte ich Sommer 1905. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich Juli 1906 in Bonn, das Staatsexamen im Frühjahr 1909 in Rostock.